

Aus der III. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Lehrkrankenhauses München-Schwabing
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. H. Mehrert

Hämorrheologie und Thrombozytenfunktion
bei Typ I-Diabetikern
mit normnaher Blutzuckereinstellung

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Marga Dorf Miller
aus

Augsburg

1987 

Aus der III. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Lehrkrankenhauses München-Schwabing
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. H. Mehnert

**Hämorrheologie und Thrombozytenfunktion
bei Typ I-Diabetikern
mit normnaher Blutzuckereinstellung**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Marga Dorfmueller
aus
Augsburg
1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Privatdozent Dr. H.-U. Janka

1. Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Mehnert

2. Mitberichterstatter: Prof. Dr. P. Schwandt

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Februar 1988

In Erinnerung an
meine Eltern

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	1
2. Patienten und Methoden	5
2.1. Patientenauswahl	5
2.2. Organisation der Studie	5
2.3. Blutentnahme	6
2.4. Erythrozytenfiltrierbarkeit	7
2.5. Vollblutviskosität	9
2.6. Erythrozytenaggregation	12
2.7. Plasmapviskosität	14
2.8. Fibrinogen	16
2.9. Alpha ₂ -Makroglobulin	17
2.10. Thrombozytenaggregation	18
2.10.1. ADP-induzierte TA	18
2.10.2. Kollagen-induzierte TA	22
2.11. Beta-Thromboglobulin	22
2.12. Thromboxan B ₂	25
2.13. 6-Keto-Prostaglandin F _{1α}	30
2.14. Hämoglobin A _{1c}	34
2.15. Plasminogen	35
2.16. Antithrombin III	36
2.17. Weitere klinisch-chemische Untersuchungen	38
2.18. Statistische Verfahren	39
3. Ergebnisse	40
3.1. Diabetische Stoffwechsellaage	40
3.2. Hämorheologie	40
3.2.1. Erythrozytenfiltrierbarkeit	41
3.2.2. Vollblutviskosität	43
3.2.2.1. Native VBV	43
3.2.2.2. Korrigierte VBV	44
3.2.3. Erythrozytenaggregation	44

	Seite
3.2.4.	Plasmaviskosität 46
3.2.5.	Fibrinogen 48
3.2.6.	Alpha ₂ -Makroglobulin 50
3.3.	Antithrombotische Parameter 51
3.3.1.	Thrombozytenaggregation 51
3.3.1.1.	ADP-induzierte TA 51
3.3.1.2.	Kollageninduzierte TA 54
3.3.2.	Beta-Thromboglobulin 57
3.3.3.	Thromboxan B ₂ 58
3.3.4.	6-Keto-Prostaglandin F _{1α} 59
3.4.	Gerinnungsparameter 60
3.4.1.	PTT 60
3.4.2.	Andere Gerinnungsparameter 62
3.5.	Klinisch-chemische Parameter 63
3.5.1.	Blutbild-Parameter 63
3.5.2.	Lipide 64
3.5.3.	Diabetische Parameter 64
3.6.	Korrelationsberechnungen 65
3.6.1.	Korrelationen mit den hämorheologischen Parametern 65
3.6.1.1.	Erythrozytenfiltrierbarkeit 65
3.6.1.2.	Native VBV 67
3.6.1.3.	Korrigierte VBV 68
3.6.1.4.	Erythrozytenaggregation 68
3.6.1.5.	Plasmaviskosität 71
3.6.2.	Korrelationen mit den antithrombotischen und Gerinnungsparametern 72
3.6.2.1.	ADP-induzierte TA 72
3.6.2.2.	Antithrombin III 74
3.6.2.3.	Plasminogen 75
3.6.2.4.	Thromboxan B ₂ 76
3.6.2.5.	6-Keto-PGF _{1α} 77
3.6.2.6.	Beta-Thromboglobulin 77
3.6.3.	Korrelationen mit der Diabetesdauer 78
3.6.4.	Korrelationen mit den Retinopathiestadien 80

4.	Diskussion	82
4.1.	Antithrombotische Parameter	82
4.1.1.	Zum heutigen Stand der Thrombozyten- forschung	82
4.1.2.	Thrombozytenaggregation	84
4.1.3.	Beta-Thromboglobulin	87
4.1.4.	Prostaglandine	89
4.1.4.1.	Thromboxan B ₂	93
4.1.4.2.	6-Keto-PGF _{1α}	94
4.2.	Hämorheologische Parameter	95
4.2.1.	Hämorheologie und Diabetes	95
4.2.2.	Erythrozytenfiltrierbarkeit	96
4.2.3.	Vollblutviskosität	99
4.2.4.	Erythrozytenaggregation	102
4.2.5.	Plasmaviskosität	103
4.3.	Einflüsse plasmatischer Faktoren	105
4.4.	Ergebnisse der medikamentösen Therapie	109
4.4.1.	Acetylsalicylsäure	109
4.4.2.	Pentoxifyllin	112
4.5.	Abschließende Betrachtung der Ergebnisse	115
5.	Zusammenfassung	117
6.	Literaturverzeichnis	122
7.	Anhang	148
7.1.	Abkürzungsverzeichnis	148
7.2.	Tabellen	149

1. EINLEITUNG

Heutzutage hat sich der Diabetes mellitus zu einer der bedeutendsten Zivilisationskrankheiten entwickelt, wobei die Erkrankungshäufigkeit mit dem Grad der Zivilisation und des Lebensstandards steigt. Allein in Deutschland beträgt die Anzahl der manifest Erkrankten annähernd drei Prozent der Gesamtbevölkerung. Doch während früher das Schicksal eines Diabetikers durch den überwiegend letalen Ausgang des diabetischen Komas bestimmt war, begrenzen heute die Spätkomplikationen Lebensqualität und Lebenserwartung des Diabetikers. So erreichen Typ I-Diabetiker im Durchschnitt nur ein Alter von 40 bis 50 Jahren.

An erster Stelle der Mortalitätsstatistik stehen mit 78% die kardiovaskulären Erkrankungen (133), an der Spitze der Herzinfarkt (50%), neben dem durch angiopathische Veränderungen verursachten Nierenversagen (über 40%). Man unterteilt die Gefäßschäden des Diabetikers in eine unspezifische Makroangiopathie und eine diabetesspezifische Mikroangiopathie. Die Makroangiopathie unterscheidet sich pathologisch-anatomisch nicht von der Arteriosklerose des Nichtdiabetikers, tritt aber früher und häufiger auf.

Die Mikroangiopathie, die sich erst nach jahre- bis jahrzehntelanger Krankheitsdauer entwickelt, umfaßt dagegen alle Krankheitsbilder, die als Folge diabetesspezifischer Kapillarveränderungen entstehen (203). Pathologisch-anatomische Substrate sind die Verdickung der

kapillären Basalmembran, außerdem der Verlust der Perizyten und die Sklerosierung der Gefäße. Es handelt sich hierbei um einen generalisierten Prozeß, der sich an zahlreichen Stellen im Organismus nachweisen läßt.

Hierzu zählt die typische Augenhintergrundveränderung, die diabetische Retinopathie, die die häufigste Ursache für eine Erblindung bei 20 bis 60-Jährigen in der Bevölkerung darstellt (102), ebenso wie die interkapilläre Glomerulose (Kimmelstiel-Wilson).

Viele Patienten leiden aber auch an Störungen des peripheren und autonomen Nervensystems mit ihren oft quälenden und stark beeinträchtigenden Ausfallserscheinungen. Pathologisch-anatomisch beruht die Neuropathie des Diabetikers besonders häufig auf Markscheidenschäden im Sinne einer segmentalen Faserdegeneration. Aber auch degenerative Mikroangiopathien ließen sich hier nachweisen (183).

Eine weitere sehr häufige Manifestation der Mikroangiopathie betrifft die kleinen Gefäße der Haut und der Muskulatur (203). Sie allein könnte jedoch vom Organismus noch kompensiert werden. Deshalb führt sie erst in Kombination mit der Makroangiopathie und zusätzlichen exogenen und endogenen Schädigungen (Verletzungen, Infektionen) zu gravierenden Veränderungen, trophischen Störungen bis hin zu Nekrosen oder zur diabetischen Gangrän, die die zahlreichen Amputationen bei Diabetikern als Folge haben.

Die Erforschung der Ursachen dieser Spätkomplikationen nimmt heute einen hohen Stellenwert innerhalb der medizinischen Forschung ein. Noch immer ist es nicht gelungen, die genauen Zusammenhänge zu ergründen. Große Bedeutung sowohl für die Arteriosklerose, als auch für die Mikroangiopathie des Diabetikers, mißt man heutzutage der Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion zu (102). Bedingt durch einen Endothelschaden bildet sich ein lokalisierendes Entzündungsfeld mit gesteigerter Lipidakkumulation. Diese Verletzung oder Entfernung des Endothels könnte ein Schlüsselfaktor für die Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen sein (8,33,64,87,165,171,208).

Denn dort lagern sich die Plättchen an das Subendothelium an, setzen nach ihrer Aktivierung die Inhaltsstoffe ihrer Granula frei und bewirken dadurch zunächst eine weitere Aggregation von Thrombozyten. In den thrombozytären Granula befinden sich darüberhinaus Wachstumsfaktoren, die die Proliferation von glatten Muskelzellen der tunica media der Gefäßwand fördern. So entwickeln sich bei wiederholten Läsionen des Endothels proliferative Schädigungen, die durch fibröse Plaques, streifige Fetteinlagerungen und cholesterinreiche atheromatöse Beete gekennzeichnet sind.

Während im Anfangsstadium all diese Vorgänge reversibel sind und durch gegenregulatorische Maßnahmen, vor allem durch Bildung von Prostaglandin I₂ und Plasminogenaktivierung durch die Gefäßwand gestoppt werden können, kann es unter ungünstigeren Bedingungen, wie gestörtem Blutfluß oder mehrmaligen Verletzungen an der gleichen Stelle, zur Ausbildung von ausgedehnten Thrombosen mit der Gefahr von Thromboembolien kommen (87,171,208).



Auch für die Mikroangiopathie des Diabetikers postuliert man einen ähnlichen Pathomechanismus mit Adhäsion und Aggregation von Thrombozyten, besonders an Stellen, an denen die Basalmembran freiliegt.

Die Untersuchung dieser Veränderungen beim Diabetiker bereitet jedoch Schwierigkeiten, denn bisherige Untersuchungstechniken erlauben nur begrenzt eine Aussage über die Situation in vivo. Darüberhinaus fanden die meisten der vorangegangenen Untersuchungen unabhängig vom bestehenden Stoffwechselzustand der untersuchten Patienten statt. Die vorliegende Studie nahm jetzt nur solche Patienten auf, die einen gut eingestellten Diabetes ($\text{HbA}_{1c} < 9$) aufwiesen und damit eine dem Gesunden ähnliche Stoffwechselsituation.

Die meisten der Patienten erreichten dies durch die Benutzung einer Insulin-Pumpe in einem halboffenen System, das heißt, sie überprüften den Blutzuckerspiegel selbst aus einer Fingerbeerkapillare und dosierten dann entsprechend durch Eingabe in den Computer der Pumpe eine kontinuierliche Basalrate an Insulin und zusätzlich zu den Mahlzeiten Insulin-Zusatzraten.

Mit der vorliegenden Arbeit sollten somit die hämorrheologischen und antithrombotischen Verhältnisse bei Typ I-Diabetikern mit optimalen Stoffwechselbedingungen untersucht werden.

Außerdem sollte anhand der Studie durch die Gabe von hämorrheologisch wirksamen beziehungsweise die Thrombozytenfunktion beeinflussenden Medikamenten die Wirkung dieser bei stoffwechselstabilen Typ I-Diabetikern geprüft werden, um damit eventuell Rückschlüsse auf mögliche positive Beeinflussungsmöglichkeiten der bei Diabetikern veränderten hämorrheologischen und thrombozytären Parameter (102,50), die die Spätkomplikationen mitbedingen, ziehen zu können.

2. PATIENTEN UND METHODEN

2.1. Patientenauswahl

An der vorliegenden Studie nahmen insgesamt 22 Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes Typ I im Alter von 19 bis 48 Jahren teil, 12 Männer und 10 Frauen. Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war eine gut eingestellte diabetische Stoffwechsellage. Die Diabetesdauer variierte von 2 bis 44 Jahren. Das Gewicht der untersuchten Personen lag zwischen 55 und 83 kg. Alle Patienten wurden in der Diabetes-Ambulanz für Insulinpumpenträger des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing betreut.

2.2. Organisation der Studie

Zunächst wurden die nachfolgend genauer ausgeführten hämorheologischen und thrombozytären Parameter bei den ambulanten Patienten und 13 Kontrollpersonen bestimmt.

In einer randomisierten, doppelblinden Crossover-Studie sollte anschließend der Effekt von täglich 1200 mg Pentoxifyllin im Vergleich zu 600 mg Acetylsalicylsäure auf hämorheologische, antithrombotische und Gerinnungs-Parameter geprüft werden. Die Patienten wurden dazu in zwei Gruppen randomisiert:

Gruppe 1: 2 x 600 mg Pentoxifyllin/die über 4 Wochen
4 Wochen Placebo

2 x 300 mg ASS/die über 4 Wochen

Gruppe 2: 2 x 300 mg ASS/die über 4 Wochen
4 Wochen Placebo

2 x 600 mg Pentoxifyllin/die über 4 Wochen

Von den zunächst in die Studie aufgenommenen 22 Patienten verweigerten drei nach der ersten Blutentnahme die weitere Teilnahme, einer wurde wegen einer unerlaubten Begleitmedikation von der Studie ausgeschlossen.

Die Messungen der hämorheologischen Parameter wurden im Labor von PD Dr. E. Ernst, Klinik für Physikalische Medizin der Universität München, durchgeführt, die anti-thrombotischen Parameter, die Blutbildanalysen und die Gerinnungsparameter im Institut für Diabetesforschung des Städt. Krankenhauses München-Schwabing unter der Leitung von Prof. H. Mehnert.

2.3. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte jeweils vormittags zwischen 9 und 11 Uhr, wobei die Patienten nicht nüchtern zu sein brauchten. Es wurde mit einer großlumigen Kanüle jeweils eine Kubitalvene der Patienten punktiert und das Blut dann in die verschiedenen Gefäße mit den unterschiedlichen Lösungsmitteln getropft. Um artifizielle Einflüsse auf die Gerinnungsfaktoren so gering wie möglich zu halten, wurde eine möglichst atraumatische Punktion durchgeführt.

2.4. Erythrozyten-Filtrierbarkeit (EF)

Zur Bestimmung der Erythrozytenflexibilität kam die Filtrationsmethode nach Dodds und Dormandy (44) mit Nucleporefiltern der Porengröße 5 μ zur Anwendung. Zunächst mußte eine verdünnte Suspension hergestellt werden, da Vollblut nicht ohne Druck durch Poren mit 5 μ Durchmesser fließt.

10 ml Vollblut aus einer großlumigen Vene wurden in ein vorbereitetes Lithium-Heparinröhrchen (12,5 U/ml Heparin) getropft und sofort nach der Abnahme vorsichtig durchmischt, um ein Gerinnen der Probe zu vermeiden. Die Verarbeitung erfolgte jeweils innerhalb von 2 Stunden nach Blutentnahme.

Zunächst wurde das heparinisierte Blut bei 2500 g 10 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. 3 ml des Plasmaüberstandes wurden anschließend in ein Reagenzglas pipettiert. Nach Abheben des restlichen Plasmaüberstandes konnten aus dem verbleibenden Erythrozytenkonzentrat 4 Tropfen durch eine Saugpipette entnommen werden und den 3 ml Plasma zugemischt werden. Diese Suspension (Hk ca. 5%) wurde gründlich gemischt.

Nun wurde der Nucleporefilter mit einem befeuchteten Pinsel aus der Verpackung entnommen und in die vorbereitete, ebenfalls angefeuchtete Halterung in einer bestimmten Richtung eingeklemmt. Die Halterung mitsamt Nucleporefilter wurde auf 2 Reagenzgläser aufgesetzt. Ein drittes Reagenzglas blieb ohne Aufsatz (s. Abb. 1).

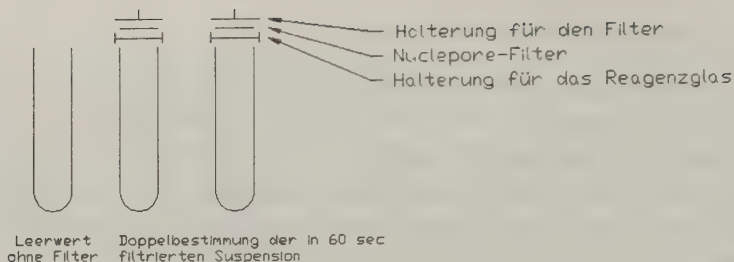


Abb. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Messung der Erythrozytenfiltration

Je 1 ml der gut durchmischten Suspension wurde nun auf jeden Reagenzglasfilter gegeben. Nach genau 60 Sekunden Tropfzeit wurde die Halterung mit Filter von dem Reagenzglas abgenommen. In das dritte Reagenzglas kam direkt ohne Filter 1 ml der Suspension, der als Leerwert diente.

Alle drei Gläser wurden nun mit genau 10 ml Aqua dest. versetzt und gründlich durchmischte. Dadurch kam es zur vollständigen Hämolyse der Erythrozyten. In einem Eppendorf-Photometer wurde nach Justierung mit Aqua dest. die Extinktion der Lösungen bei 546 nm analog einer Hb-Messung bestimmt. Die Resultate wurden als Filtrationsindex angegeben und zwar die Menge der in 60 Sekunden von dem 1 ml filtrierte Suspension im Verhältnis zu der Menge, die hätte filtrierte werden können, nämlich 1 ml.

Dazu erfolgte die Bildung des Quotienten der beiden filtrierte Werte (E1 bzw. E2) durch den Leerwert (E0).

$$\frac{E_1 + E_2}{E_0} : 2 = \text{FILTRATIONSINDEX (FI)}$$

Der endgültige Wert ergab sich durch Berechnung des Mittelwertes aus den beiden Quotienten der Doppelbestimmung.

Normalwert: $0,68 \pm 0,12$ dimensionslos (Filterchargen-abhängig)

Andere Methoden: Viskosimetrie
Zentrifugation
Mikropipette
Diffraktometrie

2.5. Vollblutviskosität (VBV)

Vollblut zählt nicht zu den Newton'schen Flüssigkeiten aufgrund seiner Strukturviskosität und Thixotropie (55). Diese beiden Eigenschaften bestimmen wesentlich das rheologische Verhalten des Blutes.

Die Bestimmung der VBV ist nun abhängig von einer ganzen Reihe anderer Faktoren des Blutes, insbesondere dem Hämatokrit und den großen Eiweißmolekülen Fibrinogen und Alpha₂-Makroglobulin, aber auch von der Erythrozytenflexibilität, der Erythrozytenaggregation, der Plasma-viskosität, der Temperatur und der Schergeschwindigkeit.

Um die Aussagekraft der Ergebnisse zu steigern, wurden einige dieser beeinflussenden Parameter standardisiert. Die Temperatur betrug bei allen Messungen $37,00^{\circ}\text{C}$; es wurde jeweils bei drei definierten Schergeschwindigkeiten gemessen ($D_1 = 0,7 \text{ s}^{-1}$, $D_2 = 2,4 \text{ s}^{-1}$, $D_3 = 94,5 \text{ s}^{-1}$); im Anschluß an jede Messung erfolgte eine Umrechnung auf einen standardisierten Hämatokritwert von 45%.

Wie bei der EF wurden alle Messungen innerhalb von 2 Stunden nach der Blutentnahme aus einer Kubitalvene des Patienten durchgeführt, wobei als Antikoagulans ebenfalls Lithium-Heparin (12,5 U/ml) zur Anwendung kam.

Für die Messung fand das Rotationsviskosimeter "Low Shear 30" der Firma Contraves Verwendung, eines der heute gebräuchlichsten Geräte. Das Prinzip der Rotationsviskosimeter besteht darin, daß sich 2 Oberflächen relativ gegeneinander bewegen und damit eine dazwischenliegende Flüssigkeit einer definierten Schergeschwindigkeit aussetzen. Der Widerstand, den die Flüssigkeit der Rotation der Flächen entgegensetzt, ist ein Maß für die Viskosität dieser Flüssigkeit.

Das Contraves LS 30-Viskosimeter arbeitet mit dem sogenannten Couette-System (oder System koaxialer Zylinder). Dabei befindet sich die Blutprobe in einem zylindrischen Behälter, in den ein ebenfalls zylindrischer Drehkörper eingesenkt wird. Der Abstand des Drehkörpers zu dem umschließenden Behälter ist vernachlässigbar gering, sodaß eine dazwischenliegende Flüssigkeit bei Rotation der beiden Flächen gegeneinander nur einer bestimmten Schergeschwindigkeit ausgesetzt wird.

Zuerst wurde nun das Viskosimeter justiert; das Gerät mußte horizontal stehen und der Kegel in dem umfassenden Behälter zentriert werden. Die Temperatur des umgebenden Wasserbades betrug genau 37,00 C.

1000 µl des durchmischten heparinisierten Vollblutes wurden nach langsamem Anheben des Kegels aus der Justierposition luftblasenfrei (störender Einfluß auf die Messungen) in den zylindrischen Behälter pipettiert und der Kegel vorsichtig und langsam in die Flüssigkeit wieder abgesenkt. Nach einer Minute Anwärmzeit wurde dann die erste definierte Schergeschwindigkeit von $0,7 \text{ s}^{-1}$ eingestellt.

Jetzt bewegte sich der die Probe umgebende Zylinder mit dieser Geschwindigkeit um den ruhenden Kegel. Die Viskosität der Flüssigkeit ließ nun auch Drehkräfte auf den Kegel wirken, der aber durch einen Elektromagneten in seiner Position gehalten wurde. Die elektrische Kraft, die aufgewendet werden mußte, um den Kegel in seiner Position zu fixieren, diente als Maß für die Viskosität der Probe bei der jeweiligen Schergeschwindigkeit. Dieser Wert ließ sich an dem digitalen Anzeigegerät des Contraves LS 30 ablesen.

Nacheinander wurden nun die definierten Schergeschwindigkeiten $D_1 = 0,7 \text{ s}^{-1}$, $D_2 = 2,4 \text{ s}^{-1}$ und $D_3 = 94,5 \text{ s}^{-1}$ eingestellt und der jeweils zugehörige Viskositätswert nach 15-20 Sekunden abgelesen. Alle Messungen erfolgten zweifach. Von allen Doppelbestimmungen ging der Mittelwert in die Berechnungen ein.

Die Umrechnung in $\text{Pa} \cdot \text{s}$ geschah durch Multiplikation des abgelesenen Wertes mit einem bestimmten, der Schergeschwindigkeit angepaßten, Faktor.

$$D_1 = 0,7 \text{ s}^{-1} \text{ abgelesener Wert} \times 1,876 = \eta_1 (\text{Pa} \cdot \text{s})$$

$$D_2 = 2,4 \text{ s}^{-1} \text{ abgelesener Wert} \times 0,549 = \eta_2 (\text{Pa} \cdot \text{s})$$

$$D_3 = 94,5 \text{ s}^{-1} \text{ abgelesener Wert} \times 0,069 = \eta_3 (\text{Pa} \cdot \text{s})$$

Wie bereits erwähnt fanden auch die unterschiedlichen Hämatokritwerte der untersuchten Proben in die Berechnung der Vollblutviskosität Eingang. Die oben errechnete native Viskosität des Blutes wurde auf einen Hämatokrit von 45% standardisiert. Dazu diente folgende Formel:

$$PV \cdot \frac{VB Vn}{PV} \cdot \frac{45}{Hk}$$

Vorteile des verwendeten Gerätes:

- Meßfühler bewegt sich nicht
- leichte Bedienbarkeit
- reproduzierbare Ergebnisse besonders auch in niedrigen Scherbereichen

Andere Möglichkeiten zur Bestimmung der Vollblutviskosität:

- Wells-Brookfield-Viskometer: Ungenauigkeit vor allem in den unteren Scherbereichen, geringe Anschaffungskosten
- Deer-Viskometer: mißt die Viskosität als Funktion der Schubspannung und steht damit der physiologischen Situation näher
- Rotavisko: ähnlich dem verwendeten Contraves LS 30, nicht für extrem niedrige Schergeschwindigkeiten
- Weissenberg-Rheogoniometer: zu aufwendig und kompliziert für den klinischen Gebrauch

2.6. Erythrozytenaggregation (EA)

Bei der EA handelt es sich um einen reversiblen Vorgang, der in der Natur bei lebenden Substanzen auftritt. Verursacht wird sie durch intererythrozytäre Brückenbildungen, hauptsächlich bedingt durch große Eiweißmoleküle wie Fibrinogen und Alpha₂-Makroglobulin, aber auch durch Wasserstoffbrücken und elektrostatische Anziehungskräfte. Eine Beeinflussung der EA kommt auch durch die Flexibilität der roten Blutkörperchen zustande, denn rigide Zellen zeigen weniger Adhäsionstendenzen. Da die Stabilität dieser Aggregationen gering ist, treten sie vor allem dann in Erscheinung, wenn die Scherkräfte gering sind, also im langsamen Blutstrom.

Die Bestimmung der EA erfolgte photometrisch in einem transparenten Kegel-Platte-Viskosimeter nach Schmid-Schönbein (113). Das Prinzip der Messung besteht darin, daß ein Tropfen Blut geschert und dann plötzlich in Stase belassen wird. Dabei bilden sich Erythrozytenaggregate. Photometrisch zeigt sich dadurch im Verhältnis zum Ausgangswert eine vermehrte Lichtdurchlässigkeit.

Die Bestimmung geschah immer innerhalb von zwei Stunden nach Blutentnahme und zwar aus einem Tropfen des Lithium-Heparin-Blutes, das auch für die Bestimmung der VBV verwendet wurde.

Nach Justierung des Gerätes wurde der kleine Deckel auf dem Gerät geöffnet und ein Tropfen Blut (30 μ l) auf das konisch-konvexe Glasplättchen gegeben. Nach Schließen des Deckels wurde das Gerät in Betrieb genommen. Dabei wurde das Glasplättchen mit dem Bluttröpfen in Bewegung versetzt und nach 10 Sekunden plötzlich abgestoppt. Der Transmissionsunterschied ab diesem Zeitpunkt wurde photometrisch gemessen und als dimensionsloser Aggregationsindex an dem digitalen Anzeigegerät abgelesen. Die Messung wurde dreimal wiederholt. In den Berechnungen wurde jeweils der Mittelwert der drei Bestimmungen berücksichtigt.

2.7. Plasnaviskosität (PV)

Plasma, das physiologische Suspensionsmedium der Blutzellen, entspricht näherungsweise einer Newton'schen Flüssigkeit. Auch seine Viskosität hängt im wesentlichen von der Konzentration der darin gelösten Proteine ab, hier wiederum in erster Linie von Fibrinogen, bedingt durch die Größe dieses Moleküls und seine Abweichung von der sphärischen Form. Die PV geht natürlich, wie oben erwähnt, auch zu einem nicht unerheblichen Anteil in die Vollblutviskosität ein.

Die Bestimmung der PV konnte aufgrund der annähernd Newton'schen Eigenschaften in einem Kapillarviskosimeter der Firma Coulter erfolgen. Das Prinzip eines Kapillarviskosimeters besteht darin, daß unter definierten Strömungsbedingungen, d.h. bei bekannter Kapillargeometrie und bekanntem Perfusionsdruck, gemessen wird, wie lange eine bestimmte Menge Flüssigkeit braucht, um eine Kapillare zu durchfließen. Bei entsprechender Eichung ergibt dieser Zeitwert ein direktes Maß für die Viskosität.

10 ml Vollblut wurden sofort nach der Blutentnahme mit 12,5 U/ml Lithium-Heparin gemischt. Nach Abgabe von 1000 µl für die Bestimmung der VBV und 30 µl für die Bestimmung der EA (s.o.) wurde das Gemisch bei 2500 g und Raumtemperatur 10 Minuten zentrifugiert. Dann wurde der Plasmaüberstand abgehoben. Um gleichbleibende Meßbedingungen zu gewährleisten, wurden die Messungen immer bei 37,0° C durchgeführt. Die Kapillaren des Viskometers befanden sich deshalb während der gesamten Meßzeit in einem 37,0° C-Wasserbad.

Zuerst wurden die Messungen mit Aqua dest. durchgeführt. Der Vorratsbehälter wurde mit ca. 3 ml Aqua dest. gefüllt und eine Minute im Wasserbad angewärmt. Zur Bestimmung der Geschwindigkeit der Flüssigkeit in einer definierten Teststrecke diente eine parallel geschaltete Kapillare, die mit Quecksilber gefüllt war, und deren Quecksilberspiegel eine Stoppuhr am Beginn und am Ende der Strecke betätigte. Durch Drehung eines Hahnes erfolgte die Freigabe des Wassers auf die mit Quecksilber gefüllte Teststrecke, die sich unter diesem Druck entleerte und dabei durch die Bewegung des Quecksilberspiegels die Stoppuhr in Betrieb nahm. Die Zeitmessung wurde nach jeweils erneutem Füllen der Teststrecke mit Quecksilber noch dreimal durchgeführt und notiert. Dann wurde nach Ablauf des gesamten H₂O aus dem Vorratsbehälter Plasma in diesen gegeben und ebenfalls auf 37,00 C vorgewärmt. Der Meßvorgang wurde nun, wie oben mit H₂O beschrieben, wiederholt. Auch diese Bestimmungen erfolgten insgesamt viermal. Aus den Zeiten für Plasma und Aqua dest. wurden nun paarweise Quotienten gebildet und aus allen vier Quotienten dann der Mittelwert genommen. Dieser Wert wurde nun mit 0,692 multipliziert.

$$\frac{t_1(\text{Plasma}) + t_2(\text{P}) + t_3(\text{P}) + t_4(\text{P})}{t_1(\text{H}_2\text{O}) + t_2(\text{H}_2\text{O}) + t_3(\text{H}_2\text{O}) + t_4(\text{H}_2\text{O})} \times 0,692$$

4

Formel zur Berechnung der Plasmaviskosität

Bei der bekannten Viskosität von H₂O bei 37° C von 0,692 Pa·s entspricht dieser Vergleichswert jeweils auch der Angabe in Pa·s. In der statistischen Auswertung wurde jeweils nur dieser Mittelwert verwendet.

2.8. Fibrinogen

Mit Fibrinogen wurde eines der für die Hämorheologie entscheidenden Proteinmoleküle im Blutplasma bestimmt. Durch seine längliche Form und seine Größe beeinflusst es in besonderer Weise die Plasmaviskosität, während es durch seine Adhäsionstendenzen zu Erythrozyten zum einen deren Aggregation fördert, zu anderen aber damit auch maßgeblich an der Vollblutviskosität beteiligt ist.

Die Bestimmung von Fibrinogen erfolgte nach dem Prinzip der radialen Immundiffusion auf Immundiffusionsplatten der Firma Behring, die mit einem monospezifischen Antiserum gegen Fibrinogen getränkt waren.

Die Agarplatten wurden bis zu ihrer Verwendung in einer luftdichten Alu-Verpackung im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Nach Entnahme aus dem Kühlschrank und Öffnen der luftdichten Verpackung wurde die Platte etwa 30 Minuten auf Raumtemperatur angewärmt. Das Auftragen der Plasmaprobe erfolgte mit Hilfe eines Dispensers der Firma Behring, der ein Auftragsvolumen von genau $5\text{ }\mu\text{l}$ in die auf der Platte vorgegebenen Auftragsstellen gewährleistete. Die Bestimmung erfolgte jeweils doppelt. Die Plasmaprobe und das Auftragsdatum wurden auf der Rückseite genau gekennzeichnet. Nach einer Diffusionszeit von 48 Stunden bei Raumtemperatur wurde der Durchmesser des Präzipitatkreises mit einem Spezial-Lineal auf $0,1\text{ mm}$ genau bestimmt und daraus anhand von Tabellen der Fibrinogenwert abgelesen. In die statistische Auswertung ging jeweils der Mittelwert der Doppelbestimmung ein.

Normalwerte nach Angaben der Firma für gesunde, erwachsene Mitteleuropäer: $2,05 - 4,39\text{ g/l}$

2.9. Alpha2-Makroglobulin

Mit Alpha2-Makroglobulin wurde auch das Protein bestimmt, das nach Fibrinogen den entscheidenden Einfluß auf die Viskosität des Blutes nimmt.

Als Verfahren fand hier die gleiche Methode wie bei der Bestimmung von Fibrinogen Verwendung, nämlich die radiale Immundiffusion auf Agarplatten der Firma Behring, die mit einem monospezifischen Antiserum gegen Alpha2-Makroglobulin getränkt waren. Die Platten waren ebenfalls im Kühlschrank bei +40 C luftdicht verpackt gelagert. Der gleiche Dispenser wie bei der Fibrinogenbestimmung wurde hier verwendet.

Nach Anwärmen der Platten auf Raumtemperatur wurden in jede vorgezeichnete Auftragestelle genau 5 µl Plasma gegeben. Die Ablesung der Präzipitatkreise fand nach mindestens 48 Stunden mit dem zugehörigen Spezial-Lineal auf 0,1 mm genau statt. Während dieser Zeit lagerten die Diffusionsplatten bei Raumtemperatur. Jede Bestimmung erfolgte wiederum doppelt. Durch Vergleich mit Standardtabellen der Firma Behring wurde der zugehörige Alpha2-Makroglobulin Wert ermittelt. In die statistischen Berechnungen ging jeweils der Mittelwert der Doppelbestimmung ein.

Normalwerte für gesunde, erwachsene Mitteleuropäer:

1,5 - 3,5 g/l für Männer

1,75 - 4,2 g/l für Frauen

2.10. Thrombozytenaggregation (TA)

Direkt nach der Venenpunktion wurden 20 ml venöses Blut in eine Polystyrol-Spritze aufgezogen, die eine 3,8%ige Natrium-Citrat-Lösung im Verhältnis 1:10 enthielt. Nach vorsichtiger Durchmischung mit dem Antikoagulans wurde das Blut zur sofortigen Weiterverarbeitung in ein Plastik-Zentrifugen-Röhrchen überführt. Glasware konnte wegen der Adhäsivität der Thrombozyten bei diesen Untersuchungen nicht verwendet werden. Die Probe wurde nun 10 Minuten bei Zimmertemperatur und 100 g zentrifugiert. Plättchenreiches Plasma (PRP) konnte als Überstand gewonnen und in ein neues Kunststoffröhrchen pipettiert werden.

2.10.1. ADP-induzierte TA

Zur Messung der TA wurde das Universal-Aggregometer der Firma Braun-Melsungen verwendet, das an ein Eppendorf-Analog-Photometer adaptiert war. Dieses Gerät vereinigt das von Born (13) und O'Brien (152) beschriebene nephelometrische Verfahren zur Messung der induzierten TA mit dem von Breddin (16) entwickelten Plättchenaggregationstest (PAT III). Die Messung wurde stets bei einer konstanten Temperatur von 37° C durchgeführt. Dazu war es nötig, das plättchenreiche Plasma bereits in eine vorgewärmte Küvette zu geben. Auch der Heizblock des Aggregometers war auf 37° C erwärmt. So wurde das PRP unter konstanten Temperaturverhältnissen in den Lichtweg gebracht.

Eine optimale Durchmischung gewährleistete ein Magnetrührer mit 1000 U/min, der der Küvette beigegeben war. Bei Zugabe von ADP (4,75 ml Barbitalpuffer 8,6 mM mit pH 7,4 + 0,25 ml 2 mmol ADP der Firma Boehringer) ergab sich an dem

Gemisch jeweils eine Änderung der optischen Dichte, die vom Photometer, das mit einem Filter von 546 nm versehen war, registriert wurde und am Schreiber charakteristische Kurven erkennen ließ.

Das Ausmaß der TA ist jeweils abhängig von der Konzentration der induzierenden Substanzen. Der Küvette wurden deshalb immer in aufsteigender Reihenfolge 0,5 μM , 1,0 μM , 2,0 μM und 10,0 μM (Endkonzentration) beigegeben. Die Messung wurde vom Schreiber über 4 Minuten aufgezeichnet.

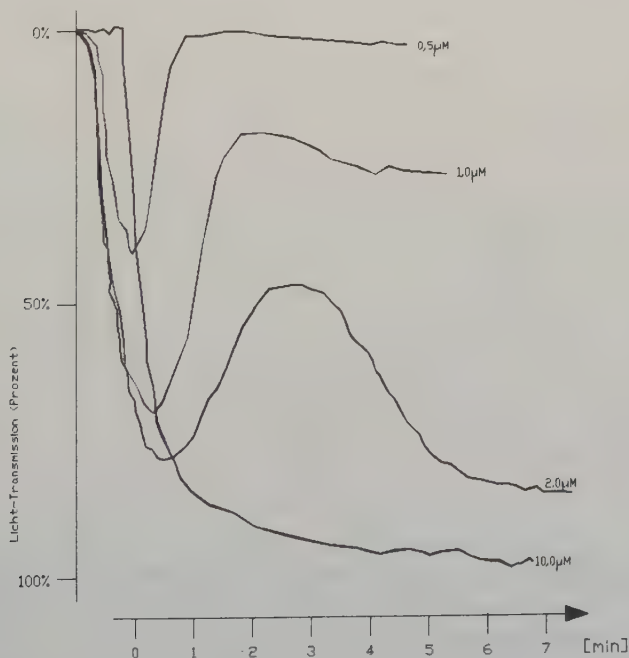


Abb.2: ADP-induzierte TA nach der von Born (13) beschriebenen Methode. Die angegebenen Zahlen stellen die ADP-Endkonzentration im PRP dar.

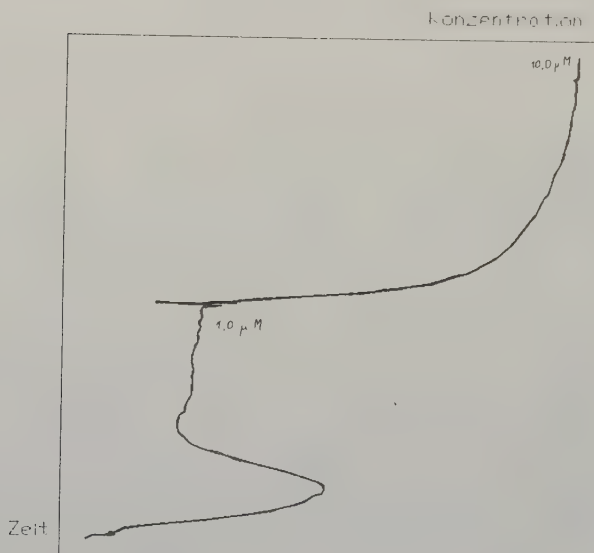
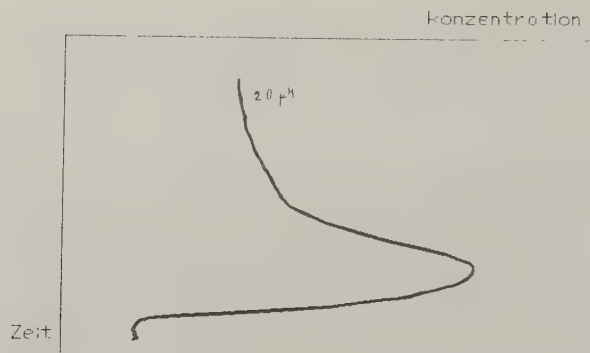


Abb.3: Typische, vom Schreiber des Photometers über 4 Minuten aufgezeichnete Aggregationskurven bei Zugabe von ADP. Angegeben sind jeweils die ADP-Konzentrationen im PRP

Der jeweilige Extinktionswert nach 4 Minuten wurde ins Verhältnis gesetzt zur maximalen TA bei 10,0 μM ADP (= 100%). Als Vergleichswert und somit als Maß für die ADP-Aggregabilität der Thrombozyten wurde der Wert der "50%-Aggregation" oder "Schwellenkonzentration" bezeichnet, der die jeweilige Konzentration angibt, bei der 50% der maximalen TA erreicht wurden. Dieser Wert wurde zeichnerisch mit Hilfe einer Dosis-Wirkungs-Kurve ermittelt. Die Angabe des Werte erfolgte im μM ADP.

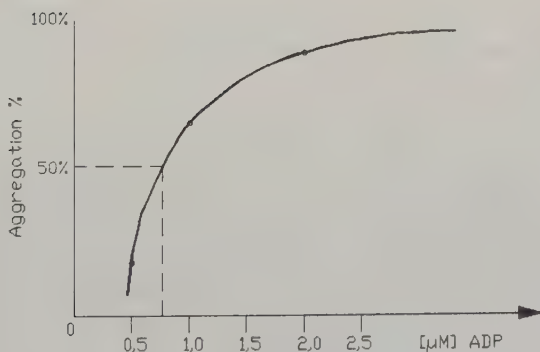


Abb.4: Graphische Ermittlung der 50%-Aggregation oder Schwellenkonzentration. Die im Beispiel dargestellten Punkte geben die prozentuale Veränderung der optischen Dichte an, die durch eine bestimmte ADP-Konzentration im PRP nach 4 Minuten erreicht wurden.

2.10.2. Kollagen-induzierte TA

Die Bestimmung der Kollagen-induzierten TA erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie bei der ADP-induzierten TA.

Die der Küvette zugegebenen aufsteigenden Konzentrationen betrugen dabei 0,2 μM , 0,5 μM , 1,0 μM , 1,5 μM , 2,0 μM und 2,5 μM Kollagen. Es wurde jeweils die niedrigste Konzentration an zugegebenem Kollagen angegeben, die die Schwellenkonzentration oder 50%-Aggregation auslöste.

2.11. Beta-Thromboglobulin (β -TG)

Um eine Freisetzung von β -TG aus den Thrombozyten zu vermeiden, mußte man bei der Behandlung der Blutprobe nach der Blutentnahme besondere Vorsicht walten lassen.

Bei der Venenpunktion wurden 2,5 ml Vollblut in ein bereits vorgekühltes Röhrchen der Firma Amersham getropft, das als Antikoagulantien Na-EDTA, Prostaglandin E_1 und Theophyllin enthielt. Sogleich wurde es vorsichtig durchmischt. Danach wurde es sofort wieder in ein Eisbad gestellt und anschließend bei 20° C und 2000 g 30 Minuten zentrifugiert. Bis zur Analyse wurden 0,5 ml Plasma des Überstandes (obere Phase) bei -20° C eingefroren.

Die β -TG-Konzentrationen wurden radioimmunologisch mit Hilfe des kommerziellen Kits der Firma Amersham bestimmt. Das Verfahren beruht auf einer kompetitiven Bindung von ^{125}J -markiertem β -TG an einer definierten Anzahl von β -TG-spezifischen Antikörpern.

Verwendete Substanzen:

- Antikörper: β -TG-Antiserum
- Tracer: ^{125}J - β -TG
- Standard: Humanes β -TG in 5 Konzentrationen
- Trennmethode: Ammoniumsulfatlösung

Pipettierschema des Tests (alle Vol. in μl)

	Standards (ng/ml)					Plasmaproben		
	10	20	50	100	225	11/12	12/13	usw
Teströhrchen	1/2	3/4	5/6	7/8	9/10	11/12	12/13	usw
Standards	50	50	50	50	50	-	-	
Plasmaproben	-	-	-	-	-	50	50	
^{125}J -Antiserum	200	200	200	200	200	200	200	
Trennlösung	500	500	500	500	500	500	500	

Je 50 μl der verschiedenen Standardlösungen bzw. der Plasmaproben wurden als Doppelbestimmungen nach dem oben genannten Pipettierschema in die Teströhrchen gegeben. 200 μl ^{125}J - β -TG und 200 μl β -TG-Antiserum wurden zugegeben, die gesamte Lösung dann gut durchmischt und 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Durch Zugabe von 500 μl Ammoniumsulfatlösung trennte sich das an den Antikörper gebundene ^{125}J - β -TG ab. Nach 10 Minuten Zentrifugieren bei 1000 g und Abnahme des Überstandes wurde die radioaktive Strahlung des Präzipitates in einem Gamma-Counter gemessen. Die Menge an ^{125}J - β -TG, die an die Antikörper gebunden ist, ist der Menge an nicht markiertem β -TG in der Lösung umgekehrt proportional (Prinzip der kompetitiven Bindung). Die jeweilige Konzentration der Probe an β -TG konnte daher an der mit Hilfe der Standardwerte erworbenen Standardkurve ermittelt werden.

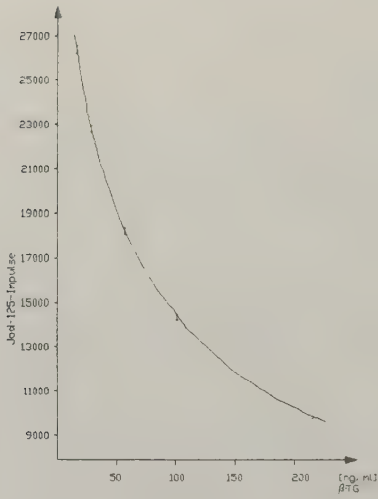


Abb.5: Typische Standardkurve zur Ermittlung des β -TG-Gehaltes der Plasmaproben

2.12. Thromboxan B₂ (TXB₂)

Da TXB₂ eine sehr große Adhäsionsneigung besitzt, konnten für die Bestimmungen nur Silikon-Röhrchen Verwendung finden, um einen Verlust durch Anlagerung auszuschließen.

Aus einer punktierten Vene ließ man 10 ml Vollblut in ein Silikon-Teströhrchen tropfen, das als Antikoagulantien EDTA und Aspisol enthielt. Nach vorsichtigem Durchmischen wurden die Proben in ein Eisbad überführt, dann 15 Minuten bei 2000 g zentrifugiert, der Plasmaüberstand abgehoben und bei -20° C bis zur Analyse eingefroren.

Die Bestimmung der TXB₂-Werte in den Blutproben erfolgte mittels eines Radioimmunoassay-Kits der Firma Du Pont.

Plasmapräparation:

Zunächst wurden die Plasmaproben durch Zugabe von 50 µl 2n HCl/ml auf einen pH von 3 - 3,5 angesäuert und anschließend zur Entfernung von evtl. denaturierten Proteinen, die die TXB₂-Bestimmung stören könnten bei 100 g und 4° C zentrifugiert und der Überstand abgehoben.

Extraktion:

Die Extraktion des TXB₂ geschah mit Hilfe von BOND-ELUT-C₁₈- und Si-Säulen der Firma Analytichem International. Gleichzeitig fand ein Vacuumfiltrations-System (VAC-ELUT) derselben Firma bei diesem Vorgehen Verwendung.

Die C₁₈-Säulen wurden nacheinander mit 2 ml MeOH und 2 ml destilliertem Wasser, pH 3,5, ausgewaschen, wobei die Fließgeschwindigkeit 1 ml/min niemals überstieg. Nach Auftragen der präparierten Plasmaprobe und dem Durchlauf der Probe durch die Säule wurde diese mit 2 ml destilliertem Wasser, pH 3,5, 2 ml 15%iger MeOH-Lösung und 2 ml Petroläther nachgewaschen. Danach erfolgte die Übertragung der gefilterten Probe auf die Si-Säule.

Zur Reinigung des TXB₂ von anderen mehr oder weniger polaren Interferenzen dienten dabei folgende Lösungen aufsteigender Polarität:

I.	Benzol : EtOAc :	80 : 20
II.	Benzol : EtOAc :	60 : 40
III.	Benzol : EtOAc : MeOH	60 : 40 : 2
IV.	Benzol : EtOAc : MeOH	60 : 40 : 10
V.	Benzol : EtOAc : MeOH	60 : 40 : 30

Zunächst wurde die Silicium-Säule mit 5 ml der Lösung I. präpariert. Dann erfolgte die direkte Verbindung der C₁₈-Säule durch einen Adapter. Das TXB₂ wurde durch 1,0 ml EtOAc direkt in die Si-Säule gespült. Danach wurde die C₁₈-Säule zusammen mit dem Adapter entfernt und es erfolgten nacheinander Spülungen der Si-Säule mit je 1 ml der Lösungen I.-IV.. Zuletzt wurde das TXB₂ mit 3 ml der Lösung V. in ein silikonisiertes Glasröhrchen überführt, unter N₂ getrocknet und anschließend mit 500 µl Pufferlösung der Firma Du Pont versetzt. Diese Lösung wurde gründlich durchmischt, 30 Minuten inkubiert und danach durch einen Spezialfilter (Millex-Filter) mit einer Porengröße von 0,22 µl filtriert.

Die Bestimmung der TXB₂-Konzentrationen durch Radioimmunoassay erfolgte nun in ähnlicher Weise wie bei der β-TG-Bestimmung nach dem Prinzip der kompetitiven Bindung durch einen analogen ¹²⁵J-markierten Wirkstoff.

Verwendete Substanzen:

- Antikörper: Kaninchen-AK gegen TXB₂
- Pufferlösung: 0,9% NaCl, 0,01 M EDTA, 0,3% Rinder-Gammaglobulin, 0,005% Triton-X-100, 0,05% Natriumacid in 50 mM Phosphatlösung, pH 6,8
- Tracer: ¹²⁵J-markiertes TXB₂
- Standard: Humanes TXB₂-Konzentrat
- Trennsubstanz: Polyethylen-Glykol 16% und Natriumacid 0,05% in 50 mM Phosphat-Puffer, pH 6,8

Aus dem Standard-Konzentrat wurden durch Verdünnung 8 verschiedene Konzentrationen von 10 bis 5000 pg/ml TXB₂ hergestellt.

Pipettierschema (alle Vol. in µl)

	Total- Counts	Null- Standard	Stan- dard	Plasma- Proben	
Teströhrchen	1/2	3/4	5-18	19/20	21/22 usw
Puffer	-	100	-	-	-
Standards	-	-	100	-	-
Plasmaproben	-	-	-	100	100
¹²⁵ J-TX-B ₂	100	100	100	100	100
TX-B ₂ -Antiserum	-	100	100	100	100
Trennsubstanz	-	1000	1000	1000	1000

Alle Meßwerte wurden in Doppelbestimmungen ermittelt. Dabei wurden zunächst entsprechend dem Pipettierschema (s.o.) 100 μ l der verschiedenen Standardlösungen bzw. der vorbehandelten Plasmaproben mit 100 μ l der Tracer-Lösung $^{125}\text{J-TXB}_2$ versetzt und gründlich durchmischt (Schüttelmixer). Dazu wurden dann 100 μ l Kaninchen-AK gegen TXB_2 gegeben, gründlich durchmischt und über Nacht (18 Stunden) bei 20°C inkubiert. Dann erfolgte die Abtrennung des $^{125}\text{J-TXB}_2\text{-AK-Komplexes}$ durch Zugabe von 1 ml Trennlösung, die eine Präzipitation des Komplexes bewirkte. Nach 30 Minuten Inkubationszeit bei 20°C wurde nach 30 Minuten Zentrifugieren des Gemisches bei 2000 g der Überstand dekantiert und die Radioaktivität des Präzipitates analog zur $\beta\text{-TG-Bestimmung}$ gemessen. Die jeweiligen Werte konnten an einer Standardkurve aus dem Quotienten der gebundenen Aktivität der Standards (B) zur Totalaktivität des Leerwertes (B_0 = Null-Standard) in Bezug zur Konzentration der Standards in pg abgelesen werden. Dabei wurden die verschiedenen Verdünnungen in die Berechnung des endgültigen Wertes miteinbezogen.

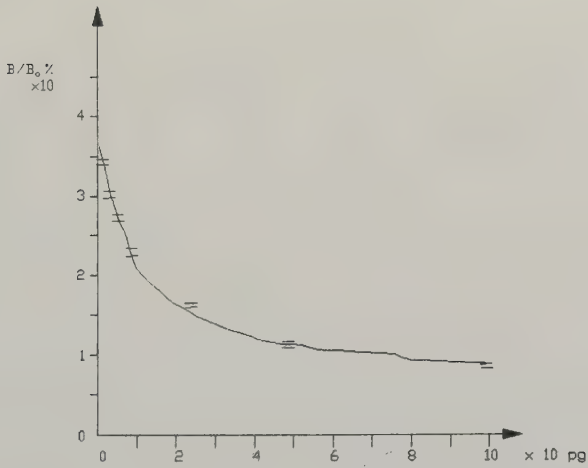


Abb.6: Typische Standardkurve zur Ermittlung des TX-B2-Gehaltes der Plasmaproben

2.13: 6-Keto-Prostaglandin $F_{1\alpha}$ (6-Keto-PGF $_{1\alpha}$)

Die Bestimmung des 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ orientierte sich an dem gleichen Schema wie die Bestimmung des TXB $_2$. Ebenso fanden hier nur Gefäße und Geräte aus silikonisiertem Glas Verwendung, da die Adhäsionstendenz des 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ ähnlich hoch ist wie die des TXB $_2$.

Zunächst erfolgte wiederum die Blutentnahme in ein Anti-koagulantien-beschichtetes Teströhrchen (Antikoagulantien wie bei der TXB $_2$ -Bestimmung). Dann, nach vorsichtigem Durchmischen, wurde es wiederum bei 2000 g und 20° C 15 Minuten lang zentrifugiert und der Plasmaüberstand abgehoben. Dieser wurde bis zur Analyse bei -200° C eingefroren. Die Bestimmung geschah mittels eines Radioimmunoassay-Kits der Firma Du Pont.

Plasmapräparation:

Zunächst Ansäuerung des Plasmas auf pH 3 durch Zugabe von 100 ul/ml 2 M Zitronensäure. Danach erfolgte die Zentrifugation des angesäuerten Plasmas für 10 Minuten bei 1000 g und -40° C, um evtl. denaturierte Proteine aus der Lösung zu entfernen. Der Überstand nach Zentrifugation wurde abgehoben.

Extraktion:

Sie geschah mit Hilfe von BOND-ELUT C₁₈- und Si-Säulen der Firma Analytichem International nach dem gleichen Prinzip wie bei der TXB₂-Bestimmung und ebenso fand das Vacuum-Filtrations-System (VAC-ELUT) derselben Firma hier Verwendung.

- Präparation der C₁₈-Säule durch Auswaschen mit 2 ml MeOH und 2 ml dest. Wasser , pH 3, bei einer Fließgeschwindigkeit < 1 ml/min.
- Auftragen der Plasmaprobe auf die Säule
- Nachwaschen der Säule mit 2 ml dest. Wasser, pH 3, 2 ml 10%igem MeOH und 2 ml Benzol
- Vorbereitung der Si-Säule durch Auswaschen mit 5 ml der Lösung I. (s. TX-B₂-Bestimmung)
- Verbindung der beiden Säulen durch einen Adapter
- Auswaschen des 6-Keto-PGF₁ α aus der C₁₈-Säule durch 1 ml EtOAC
- Entfernen der C₁₈-Säule und des Adapters
- Waschen der Si-Säule nacheinander mit je 1 ml der Lösungen II.-IV. (s. TX-B₂-Bestimmung)
- Ausspülen des 6-Keto-PGF₁ α in ein silikonisiertes Röhrchen durch 5 ml Lösung V. (s. TX-B₂-Bestimmung)
- Trocknen unter N₂ und erneute Lösung in 500 μ l Pufferlösung der Firma Du Pont; gründliche Durchmischung und 30 Minuten Inkubation
- Zum Schluß wiederum Filterung durch einen "Millex-Filter", der eine Porengröße von 0,22 μ l aufwies.

Radioimmunoassay:

Die Bestimmung des 6-Keto-PGF₁α erfolgte nun ebenso wie die Bestimmung des TXB₂ nach dem Prinzip der kompetitiven Bindung eines markierten Analogons und Determinierung durch einen spezifischen Antikörper gegen 6-Keto-PGF₁α .

Verwendete Substanzen:

- Antikörper: Kaninchen-AK gegen 6-Keto-PGF₁α
- Pufferlösung: NaCl 0,9%, EDTA 0,01 M, Rinder-Gammaglobulin 0,3%, Triton-X-100 0,005%, Natriumacid 0,05% in 50 mM Phosphatpuffer
- Tracer: ¹²⁵J-6-Keto-PGF₁α
- Standard: Humanes 6-Keto-PGF₁α -Konzentrat
- Trennmethode: Polyethylen-Glykol 16% und Natriumacid 0,05% in 50 mM Phosphatpuffer, pH 6,8

Aus dem Standardkonzentrat wurden durch Verdünnungsreihe 7 verschiedene Konzentrationen hergestellt, von 2 - 200 pg/100 ul.

Das Pipettierschema entspricht genau dem bei der Bestimmung von TXB₂ (s.o.). Je 100 µl der unterschiedlichen Standardlösungen bzw. der vorbehandelten Plasmaproben wurden mit 100 µl der Tracer-Lösung gründlich gemischt und anschließend mit 100 µl der Antikörper-Lösung versetzt. Nach gründlicher Durchmischung folgte eine Inkubationszeit von 18 Stunden über die Nacht. Daran schloß sich die Präzipitation der ¹²⁵J-6-Keto-PGF₁α -AK-Komplexe durch Zugabe von 1 ml Trennsubstanz an. Nach Durchmischung und einer Inkubationszeit von 20-30 Minuten wurde das Gemisch erneut bei 2000 g und -4° C für 30 Minuten zentrifugiert.

Der Überstand wurde dekantiert und verworfen. Das Präzipitat wurde im Gamma-Counter auf seine Radioaktivität hin untersucht.

Durch Aufstellen einer Standardkurve konnten die 6-Keto-PGF_{1α}-Konzentrationen der Plasmaproben nach dem gleichen Schema wie bei der TXB₂-Bestimmung berechnet werden.

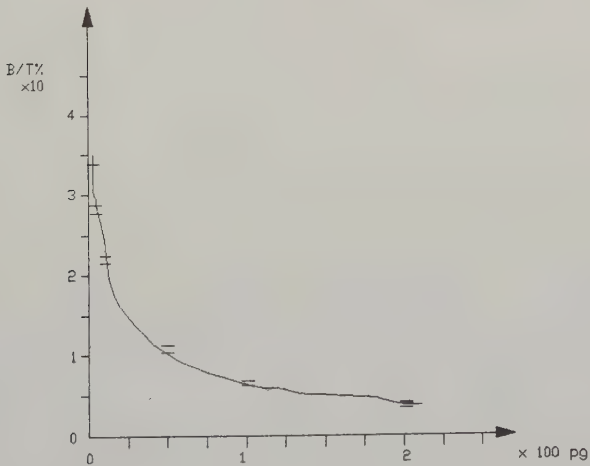


Abb.7: Typische Standardkurve zur Ermittlung des 6-Keto-PGF_{1α}-Gehaltes der Plasmaprobe.

2.14. Hämoglobin A_{1c} (HbA_{1c})

Hämoglobin A₁ oder glycosyliertes Hämoglobin ist eine modifizierte Form des adulten Hämoglobins HbA. Beim Erwachsenen entspricht HbA über 90% des Gesamt-Hämoglobins. HbA₁ ist eine Untergruppe und setzt sich wiederum aus drei verschiedenen Anteilen zusammen, HbA_{1a}, HbA_{1b} und HbA_{1c}. Diese drei ergeben etwa 7% des gesamten Hämoglobins, im wesentlichen HbA_{1c} als die größte Fraktion.

Das Prinzip der Messung besteht darin, daß eine kleine Menge Blut mit einer hämolysierenden Substanz gemischt wird. Dadurch wird das intraerythrozytär gelegene Hämoglobin freigesetzt. Die β -Ketten des Hämoglobins A₁ haben nun an ihrer N-Terminalen Glukose in Form einer Schiff-schen Base gebunden. Dieser Anteil wird durch die Hämolys-Substanz entfernt. Eine definierte Menge des Hämolysates wird dann auf eine Harz-Säule gegeben und durch eine erste Pufferlösung gereinigt (Borat-/Phosphat-Puffer, pH 6,7). Dieser Puffer entfernt HbA_{1a} und HbA_{1b} und im weiteren auch die labile Schiff'sche-Base-Fraktion. HbA_{1c} und HbA₀ verbleiben auf der Säule. Durch Zugabe einer zweiten Pufferlösung (Phosphatpuffer pH 6,7) wird nun die HbA_{1c}-Fraktion von der Säule gelöst, unabhängig von dem verbleibenden Hämoglobin, und in einem Reagenzglas aufgefangen.

Währenddessen wird eine gleiche Menge des Hämolysates ebenfalls mit der zweiten Pufferlösung versetzt. Beide Mengen, die herausgelöste HbA_{1c}-Fraktion und die Gesamthämoglobin-Menge, werden bei 415 nm photometriert und somit der Prozentanteil der HbA_{1c}-Fraktion am Gesamt-Hämoglobin ermittelt.

Die Referenzwerte liegen bei gesunden Erwachsenen zwischen 3,43 und 6,11%.

2.15. Plasminogen

Die Bestimmung von Plasminogen fand mit Hilfe der manuellen Zweipunkt-Methode mit Reagentien der Firma Behring statt.

Nach dem Abtropfen des venösen Blutes in ein Zitratröhrchen (Natrium-Citrat 1 ml/10 ml Blut) wurde die Probe bei 1500 g 10 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert und das abgehobene Plasma bis zur Bestimmung bei -20°C eingefroren. Die Messungen fanden alle bei 37°C statt, wobei auch die Kunststoffröhrchen und die anderen Reagentien schon vorgewärmt waren.

Verwendete Substanzen:

- NaCl 0,9%
- Streptokinase-Reagenz: 1,000 SK-U/ml, 0,1 mol/l KH_2PO_4 , pH 7,5
- Substrat-Reagenz: 3 mmol/l D-Norvalyl-cyclohexylalanyl-lysyl-p-nitroanilid (HD-Nva-CHA-Lys-pNA)
- Essigsäure 20%

Pipettierschema: (alle Vol. in ml)

	Leerwert Proben		
Teströhrchen	1/2	3/4	5/6 usw.
NaCl 0,9%	1,00	-	-
Plasmaprobe	0,02	0,02	0,02
Streptokinase-Reagenz	-	1,00	1,00
Substrat-Reagenz	0,10	0,10	0,10
Essigsäure 20%	0,50	0,50	0,50

Zunächst wurde 1 ml isotonische Kochsalzlösung für den Proben-Leerwert pipettiert. Anschließend gab man genau 0,02 ml Plasma in die Probenröhrchen und noch jeweils 1,00 ml Streptokinase-Reagenz (s. Pipettierschema). Dadurch wird das Plasminogen der Probe in einen Plasminogen-Streptokinase-Komplex überführt, der sich in einem kinetischen Test nachweisen läßt da er die Umwandlung der Substratreagenz HD-Nva-CHA-Lys-pNA in HD-Nva-CHA-Lys-OH + p-Nitroanilin katalysiert. Der genannte Testansatz wurde gut gemischt und 10 Minuten bei 37° C inkubiert. Dann erfolgte die Zugabe der Substrat-Reagenz, 0,10 ml in jedes Röhrchen. Nach sofortiger Durchmischung und abgestoppten 2 Minuten Inkubationszeit fügte man noch 0,50 ml 20%ige Essigsäure hinzu, um die Testreaktion zu unterbrechen. Nach erneuter, gründlicher Durchmischung wurde die Probenextinktion gegen den Probenleerwert bei 405 nm bestimmt.

Formel:

$$E_{\text{Probe}} \times F_{370c} = \text{Gehalt PlasminogenProbe (\% d. Norm)}$$

(Rechnungsfaktor: $F_{370c} = 261$)

Vor allen Doppelbestimmungen ging der Mittelwert in die Berechnungen ein.

Normalwerte: 75 - 140% d. Norm

2.16. Antithrombin III (AT III)

Auch die Bestimmung von Antithrombin III wurde mit Hilfe der manuellen Zweipunkt-Methode mit Reagentien der Firma Behring durchgeführt.

Die Aufbereitung der Blutprobe und damit die Gewinnung von Plasma erfolgte auf die gleiche Weise wie bei der Plasminogen-Bestimmung. Auch hier fanden alle Messungen bei 37° C statt und es kamen nur vorgewärmte Kunststoffröhrchen

und Reagentien zum Einsatz. Das Prinzip der Messung bestand auch hier in einem gekoppelten Reaktions-Ansatz, bei dem sich die Umwandlung der Substratreagenz in einen optisch-aktiven Stoff photometrisch nachweisen läßt.

Das Plasma wurde hier direkt vor dem Test im Verhältnis 1 : 50 mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnt.

Verwendete Substanzen:

- NaCl 0,9%
- α -Thrombin: 0,3 IU/ml humanes α -Thrombin, 2,5 USP-U/ml Heparin, 2 KIU/ml Aprotinin
- Substrat-Reagenz: 2 mmol/l D-Cyclohexylalanyl- α -aminobutyryl-arginyl-p-nitroanilid (HD-CHA-But-Arg-pNA)
- Pufferlösung: 100 mmol/l Tris/HCl, 150 mmol/l NaCl, pH 8,2
- Essigsäure 20%

Pipettierschema: (alle Vol. in ml)

	Thrombin Enzymwert	Proben	

Teströhrchen	1/2	3/4	5/6
NaCl 0,9%	0,05	-	-
Plasma-Verdünnung	-	0,05	0,05
Humanes α -Thrombin	1,00	1,00	1,00
Substrat-Reagenz	0,10	0,10	0,10
Essigsäure	0,50	0,50	0,50

Zunächst gab man in das Leerwertröhrchen 0,05 ml NaCl 0,9%, in die Probenröhrchen dieselbe Menge Plasmaverdünnung (s. Pipettierschema). In alle Röhrchen wurde nun 1,00 ml humanes α -Thrombin zugegeben, gut durchmischt und 5 Minuten bei 37° C inkubiert. Dann erfolgte die Zugabe von 0,10 ml Substrat-Reagenz. Das Gemisch wurde sogleich gründlich durchmischt und nach genau 2 Minuten (Stoppuhr) der Reaktionsvorgang der Substrat-Reagenz durch Zugabe von 0,50 ml 20%iger Essigsäure gestoppt. Nach sorgfältiger Durchmischung stellte man die Extinktion der Probe gegen den Leerwert fest.

Formel:

$(E_{TEW} - E_{Probe}) \times F_{370C} = \text{Gehalt AT III}_{Probe} (\% \text{ d. Norm})$

(Rechnungsfaktor $F_{370C} \doteq 476$; TEW: Thrombin-Enzymwert)

Von allen Doppelbestimmungen ging der Mittelwert in die Berechnung ein.

Normalwerte: 80 - 120% d. Norm

Fehlerquellen: Getrübte Plasmaproben, z.B. lipämische Plasmen, erhöhter Bilirubin- oder Hämoglobin-Gehalt (Hämolyse)

2.17. Weitere klinisch-chemische Analysen

Diese Bestimmungen wurden im Zentral-Labor des Städt. Krankenhauses München-Schwabing im Rahmen der klinisch-chemischen Routine-Analysen durchgeführt.

Blutglukose, Serumcholesterin und -triglyceride wurden enzymatisch nach Standardmethoden (Boehringer Mannheim) festgestellt.

2.18. Statistische Verfahren

Für die statistische Analyse wurden 18 Patienten und 13 Kontrollpersonen berücksichtigt. Die Untersuchung auf statistisch signifikante Veränderungen der Parameter durch die Medikamente Pentoxifyllin und Acetylsalicylsäure (ASS) erfolgte mit Hilfe des Student's t-Tests für unverbundene Stichproben unter Benutzung prozentualer Veränderungen. Die beiden Therapieschemata unterschieden sich dabei in der Reihenfolge der Medikationsgabe (siehe 2.2.).

Für die Signifikanzprüfungen gegenüber den Kontrollpersonen wurden nur die Ausgangswerte der Therapie-Studie berücksichtigt, um jegliche Beeinflussung durch ASS oder Pentoxifyllin auszuschließen. Dabei fand ebenfalls der Student's t-Test für unverbundene Stichproben Verwendung.

Alle statistischen Tests wurden bei zweiseitiger Fragestellung unter Verwendung eines Signifikanzniveaus von $\alpha = 0,05$ durchgeführt.

Für die Korrelationsberechnungen zwischen den einzelnen Parametern wurden ebenso wie bei den Vergleichen mit der gesunden Kontrollgruppe nur die Ausgangswerte der Medikamenten-Studie verwendet, um jegliche Beeinflussung der Parameter durch Pentoxifyllin oder ASS auszuschließen. Es wurde jeweils die Frage nach der linearen Korrelation zwischen zwei Parametern gestellt. Das Signifikanzniveau lag bei mindestens $\alpha = 0,05$. Andere Signifikanzniveaus werden gesondert angegeben.

3.2.1. Erythrozytenfiltrierbarkeit

Die statistische Auswertung der Meßwerte für die EF ergab keine signifikante Erhöhung der Werte gegenüber der Kontrollgruppe (K: $0,68 \pm 0,12$; D: $0,71 \pm 0,09$ - dimensionslos) (Tab.3).

Unter Therapie mit Pentoxifyllin zeigte sich bei einer gesonderten Auswertung der Ergebnisse der ersten Therapiephase, die für alle Werte wegen der geringeren Schwankungen der Meßwerte durchgeführt wurde, ein signifikanter Anstieg des Erythrozytenfiltrierbarkeits-Indexes um $12,7 \pm 14,5\%$ (Tab.1), der bei einer Gesamtberechnung unabhängig vom Therapieschema nicht aufgetaucht war (Tab.30, Anhang). Die graphische Darstellung beider Therapiecyclen ist der Abb.8,9 zu entnehmen.

EF	x	s	p	n
Ausgangswert				
Schema I	$0,70 \pm$	$0,09$		9
unter				
Pentoxifyllin	$0,78 \pm$	$0,05$		9
% Diff. unter				
Pentoxifyllin	$12,7 \pm$	$14,5\%$	$p < 0,05$	9

Tab.1: Darstellung der Ergebnisse für die EF in der ersten Phase des Therapieschemas I.

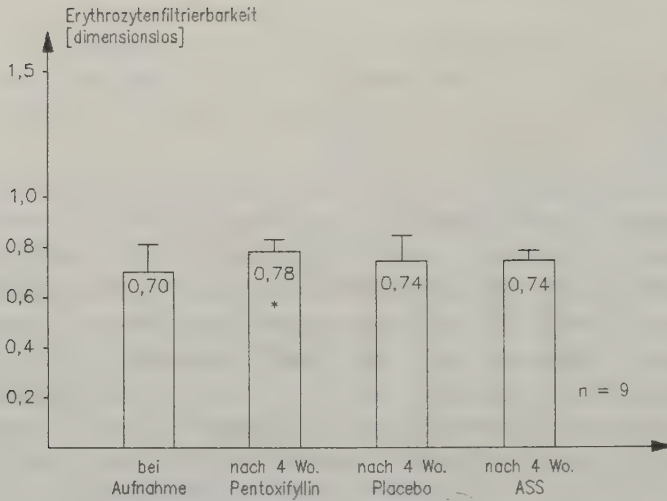


Abb. 8: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die Erythrozytenfiltrierbarkeit im Therapieschema I (* signifikant)

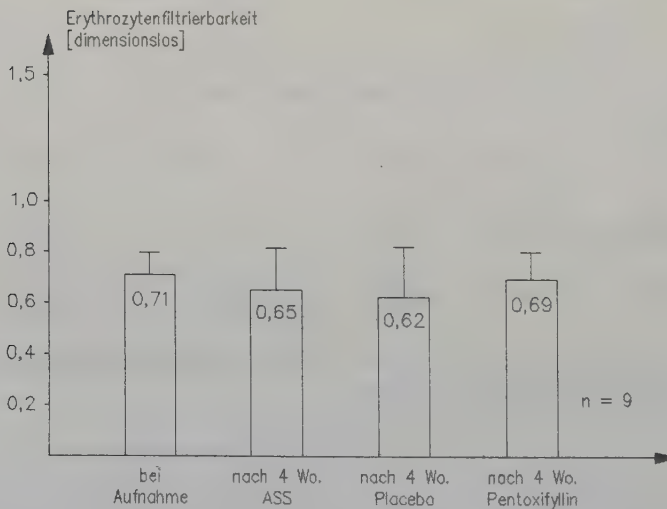


Abb. 9: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die Erythrozytenfiltrierbarkeit im Therapieschema II

3.2.2. Vollblutviskosität

3.2.2.1. Native VBV

In der vorliegenden Arbeit fanden wir die native VBV in allen drei Scherbereichen ($0,7 \text{ s}^{-1}$; $2,4 \text{ s}^{-1}$; $94,5 \text{ s}^{-1}$) gegenüber der Kontrollgruppe erhöht (Tab.2). Die Werte betrugen für die niedrige Schergeschwindigkeit von $0,7 \text{ s}^{-1}$ bei der Kontrollgruppe $23,3 \pm 3,4 \text{ mPas}$, bei den Diabetikern $30,9 \pm 6,8 \text{ mPas}$, für $D_2 = 2,4 \text{ s}^{-1}$ bei der Kontrollgruppe $14,9 \pm 3,6 \text{ mPas}$, bei den Diabetikern $16,4 \pm 3,1 \text{ mPas}$ und für $D_3 = 94,5 \text{ s}^{-1}$ bei der Kontrollgruppe $4,7 \pm 0,4 \text{ mPas}$, bei den Diabetikern $4,96 \pm 0,56 \text{ mPas}$.

Unter der Therapie mit ASS oder Pentoxifyllin konnte weder bei der Gesamtauswertung ohne Berücksichtigung der Therapiereihenfolge, noch bei einer gesonderten Auswertung der jeweils ersten Phase der beiden Therapieschemata eine signifikante Veränderung der nativen VBV festgestellt werden (Tab.29, Anhang).

VBV (mPas)	Diabetiker	Kontrollgruppe	p
VBV _n ($0,7 \text{ s}^{-1}$)	$30,9 \pm 6,8$	$23,3 \pm 3,4$	+
VBV _n ($2,4 \text{ s}^{-1}$)	$16,4 \pm 3,1$	$14,9 \pm 3,6$	+
VBV _n ($94,5 \text{ s}^{-1}$)	$4,96 \pm 0,56$	$4,7 \pm 0,4$	+
VBV _k ($0,7 \text{ s}^{-1}$)	$30,5 \pm 4,1$	$25,5 \pm 2,7$	+
VBV _k ($2,4 \text{ s}^{-1}$)	$16,2 \pm 1,7$	$16,0 \pm 2,0$	-
VBV _k ($94,5 \text{ s}^{-1}$)	$5,00 \pm 0,50$	$5,0 \pm 0,3$	-

Tab.2: Darstellung der Ausgangswerte für die native und Hk-45-korrigierte VBV im Vergleich zur Kontrollgruppe (p: Signifikanz, $p < 0,05$)

3.2.2.2. Korrigierte VBV

Für die Hk-45-korrigierte VBV ergab sich nur im niedrigen Scherbereich eine signifikante Erhöhung gegenüber der Kontrollgruppe (Tab.2). Die Werte betrugen für $D_1 = 0,7 \text{ s}^{-1}$ bei den Kontrollpersonen $25,5 \pm 2,7 \text{ mPas}$, bei den Diabetikern $30,5 \pm 4,1 \text{ mPas}$.

Auch hier zeigte sich keine Beeinflussung der Ergebnisse durch die Medikamente Pentoxifyllin und ASS, auch nicht bei einer gesonderten Auswertung der Ergebnisse für die erste Behandlungsphase (Tab.29, Anhang).

3.2.3. Erythrozytenaggregation

Bei der statistischen Auswertung der Meßwerte für die EA fanden wir eine Erhöhung der Werte gegenüber der gesunden Kontrollgruppe. Sie betrugen für die Gesunden $11,8 \pm 3,0$, für die Diabetiker $14,1 \pm 3,4$ - dimensionslos (Tab.3).

Durch eine Therapie mit Pentoxifyllin oder ASS konnten wir keine signifikante Änderung der Meßwerte erzielen. Dieses Ergebnis erhielten wir sowohl bei der Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung der Therapiereihenfolge in beiden Therapieschemata (Abb.10,11), als auch bei der Analyse der ersten Behandlungsphase der beiden Therapiegruppen (Tab.30, Anhang).

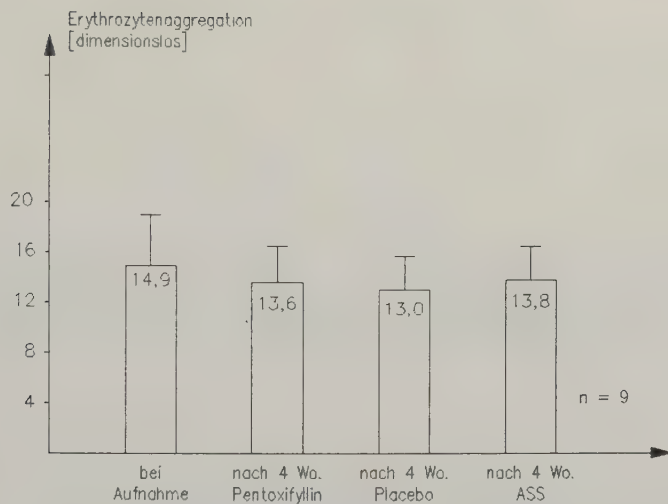


Abb.10: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die Erythrozytenaggregation im Therapieschema I

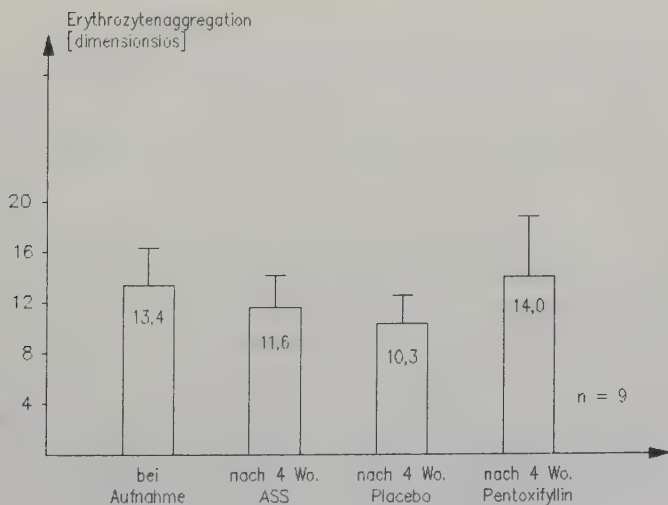


Abb.11: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die Erythrozytenaggregation im Therapieschema II

	Diabetiker	Kontrollgruppe	p
EA (dimensionslos)	14,1 ± 3,4	11,8 ± 3,0	+
EF (dimensionslos)	0,71 ± 0,09	0,68 ± 0,12	-
PV (mPas)	1,26 ± 0,07	1,18 ± 0,05	+

Tab.3: Darstellung der Ergebnisse für die Erythrozytenaggregation (EA), die Erythrozytenfiltrierbarkeit (EF) und die Plasmaviskosität (PV) der Diabetiker im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (p: Signifikanz)

3.2.4. Plasmaviskosität

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse für die PV ergab eine signifikante Erhöhung der Werte gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Die Ergebnisse betrugen für die Kontrollpersonen $1,18 \pm 0,05$ mPas, für die Diabetiker $1,26 \pm 0,07$ mPas (Tab.3).

Bei einer Gesamtanalyse der Werte unter der medikamentösen Therapie mit Pentoxifyllin oder ASS zeigte sich zunächst keine Beeinflussung des Parameters (Abb.12,13; Tab.30, Anhang). Doch eine gesonderte Auswertung der ersten Phase der beiden Therapieschemata, die insgesamt eine geringere Varianz aufwies, ergab für die Gruppe I eine signifikante ($p < 0,05$) Erniedrigung der PV unter Pentoxifyllin um $-2,5 \pm 2,7\%$ (Tab.4).

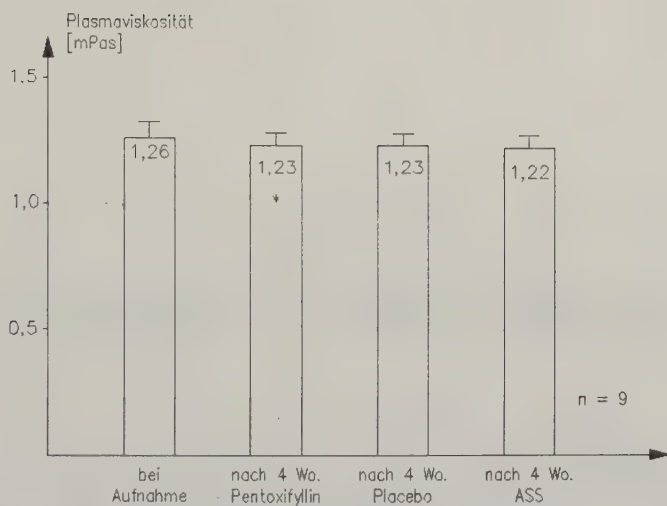


Abb.12: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Plasmaviskosität im Therapieschema I (* signifikant)

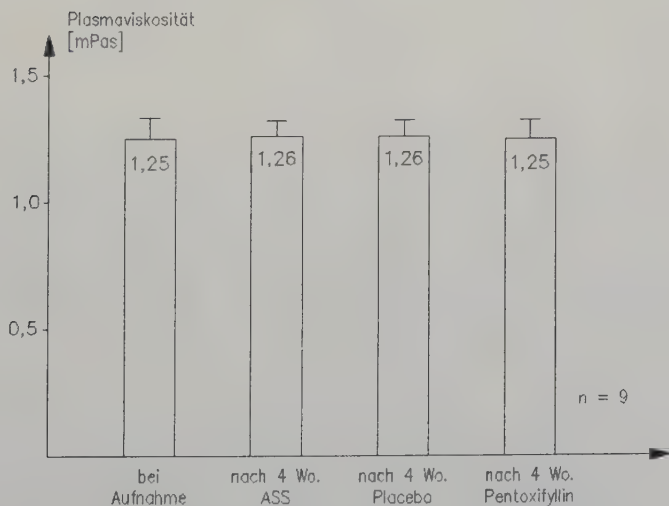


Abb.13: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Plasmaviskosität im Therapieschema II

PV \ (mPas)	x	s	p	n
Ausgangswert Schema I	1,26 ±	0,07		9
unter Pentoxifyllin	1,23 ±	0,05		9
%-Diff. unter Pentoxifyllin	-2,5% ±	2,7%	p< 0,05	9

Tab.4: Darstellung der Ergebnisse für die PV in der ersten Phase des Therapieschemas I (p: Signifikanz)

3.2.5. Fibrinogen

In unserer Auswertung der Ergebnisse fanden wir für Fibrinogen deutlich über dem Normbereich liegende Werte. Sie betrugen 482 ± 90 mg/dl (Normbereich: 205 - 439 mg/dl).

Während bei einer Gesamtanalyse aller Werte keine Beeinflussung durch die Medikamente ASS oder Pentoxifyllin festgestellt werden konnte (Abb.14,15 und Tab.30, Anhang), zeigte sich bei der Analyse der ersten Phase des Therapieschemas I, ebenso wie bei der Plasmaviskosität, eine signifikante ($p < 0,05$) Senkung des Fibrinogen-Gehaltes unter Pentoxifyllin um $6,8 \pm 8,4\%$ (Tab.5).

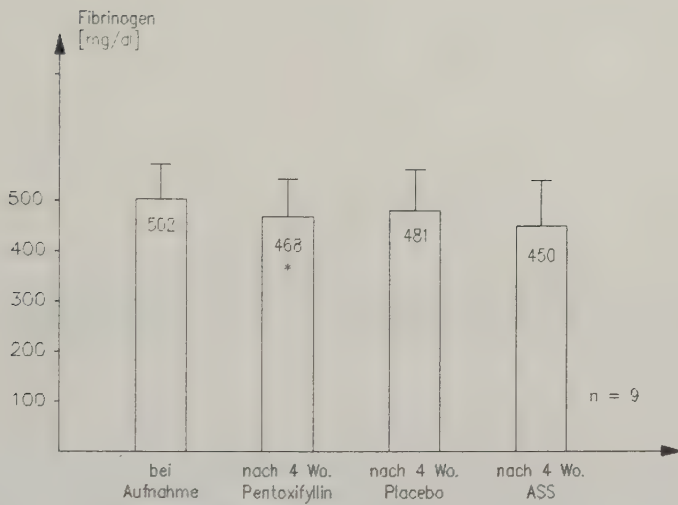


Abb.14: Graphische Darstellung der Ergebnisse für Fibrinogen im Therapieschema I (* signifikant)

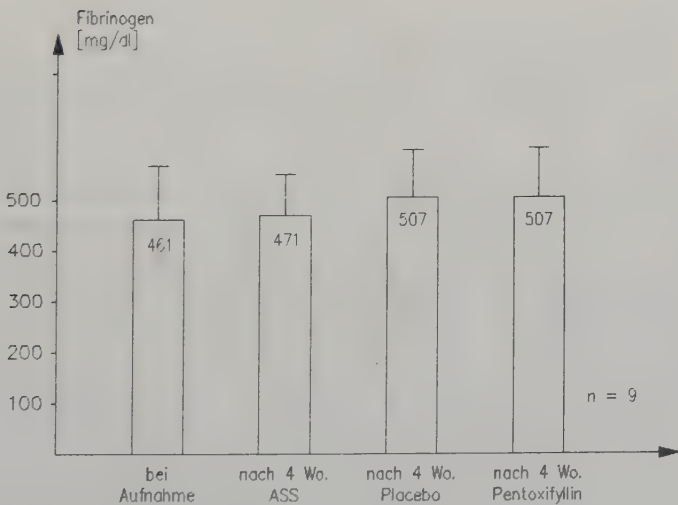


Abb.15: Graphische Darstellung der Ergebnisse für Fibrinogen im Therapieschema II

Fibrinogen (mg/dl)	x	s	p	n
Ausgangswert Schema I	502	± 69		9
unter Pentoxifyllin	468	± 75		9
%-Diff. unter Pentoxifyllin	-6,8%	± 8,4%	p< 0,05	9

Tab.5: Darstellung der Ergebnisse für Fibrinogen in der ersten Phase des Therapieschemas I (p: Signifikanz)

3.2.6. A₂-Makroglobulin

α_2 -Makroglobulin, ein potenter Plasmininhibitor, lag bei unseren Messungen mit 370 ± 99 mg/dl im oberen Normbereich (150 - 420 mg/dl). Die Auswertung der Ergebnisse für α_2 -Makroglobulin in der Medikamenten-Studie (Tab.30, Anhang) ergab ebenfalls bei der Gesamtanalyse der Meßwerte ohne Berücksichtigung der Reihenfolge der Medikation keine signifikante Änderung der Werte unter Therapie mit ASS oder Pentoxifyllin. Auch hier führten wir eine getrennte Auswertung der jeweils ersten Phase der beiden Therapiecyclen durch. Doch auch dabei ergab sich keine statistisch signifikante Änderung des Parameters durch die Medikation.

3.3. Antithrombotische Parameter

Als antithrombotische Parameter wurden folgende Meßgrößen bestimmt:

- Thrombozytenaggregation: ADP-induziert
Kollagen-induziert
- β -Thromboglobulin (β -TG)
- Thromboxan B₂ (TXB₂)
- 6-Keto-PGF₁ α

3.3.1. Thrombozytenaggregation

3.3.1.1. ADP-induzierte TA

Die Aggregabilität der Thrombozyten zeigte sich im Vergleich zum Kontrollkollektiv bei der ADP-induzierten TA erhöht. Die Werte betrugen für die Kontrollgruppe $1,94 \pm 0,12 \mu\text{M}$ ADP, für die Diabetiker $1,11 \pm 0,24 \mu\text{M}$ ADP als 50%-Aggregationswert.

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse in der Medikamenten-Studie für die ADP-induzierte TA (Abb.16,17) ergab bei einer Analyse der Gesamtergebnisse eine signifikante Erhöhung des ADP-Bedarfs für die Aggregation (Tab.6), sowohl bei Therapie mit Pentoxifyllin ($+43,1\% \pm 47,4\%$), als auch bei Behandlung mit ASS ($+111,2\% \pm 73,3\%$). Dies bedeutet eine Abnahme der Aggregationsneigung der Thrombozyten unter diesen beiden Therapien.

Das gleiche Ergebnis lieferte auch die getrennte Auswertung der jeweils ersten Phase der beiden unterschiedlichen Behandlungsschemata (Tab.7), die für alle Parameter wegen der insgesamt geringeren Varianz durchgeführt wurde (Pentoxifyllin: $+60,2\% \pm 60,4\%$; ASS: $+108,9\% \pm 65,0\%$).

ADP-induzierte TA (μM)	x	s	p	n
Ausgangswert	1,11 $\pm$	0,24		18
Placebowert	1,27 $\pm$	0,28		18
unter Pentoxifyllin	1,71 $\pm$	0,47		18
%-Diff. unter Pentoxifyllin	43,1% $\pm$	47,4%	p< 0,05	18
unter ASS	2,36 $\pm$	0,84		18
%-Diff. unter ASS	111,2% $\pm$	73,3%	p< 0,05	18

Tab.6: Darstellung der Ergebnisse für die ADP-induzierte TA bei einer Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung der Reihenfolge der Medikation.

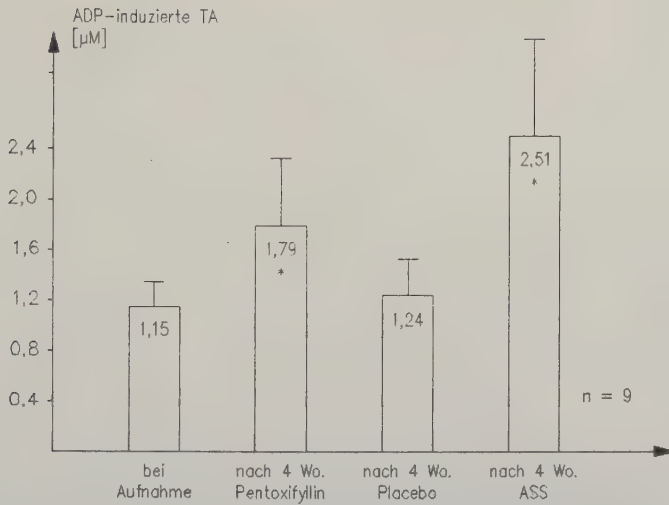


Abb.16: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die ADP-induzierte TA im Therapieschema I (* signifikant)

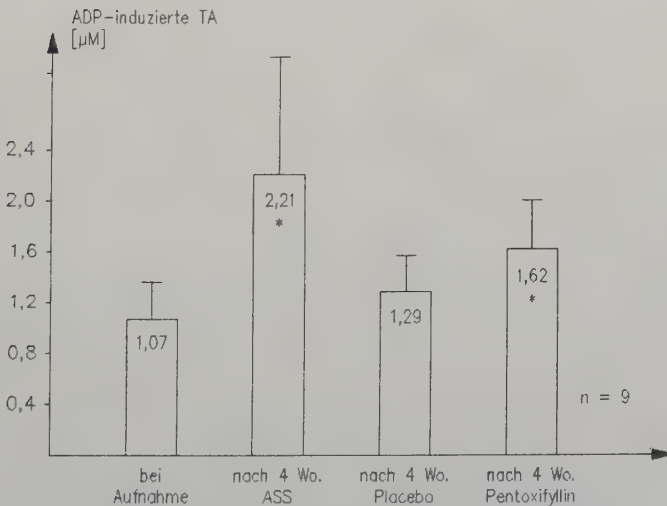


Abb.17: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die ADP-induzierte TA im Therapieschema II (* signifikant)

ADP-induzierte TA (μ M)	x	s	p	n
Ausgangswert Schema I	1,15	$\pm$ 0,20		9
unter Pentoxifyllin	1,79	$\pm$ 0,54		9
%-Diff. unter Pentoxifyllin	60,2%	$\pm$ 60,4%	$p < 0,05$	9
Ausgangswert Schema II	1,07	$\pm$ 0,29		9
unter ASS	2,21	$\pm$ 0,92		9
%-Diff. unter ASS	108,9%	$\pm$ 65,0%	$p < 0,05$	9

Tab.7: Darstellung der Ergebnisse für die ADP-induzierte TA in der jeweils ersten Phase der beiden Therapiecyclen.

3.3.1.2. Kollagen-induzierte TA

Für die Kollagen-induzierte TA konnten wir die Ausgangswerte der Therapie-Studie nicht mit der Kontrollgruppe vergleichen, da die Kollagen-induzierte TA dort nicht bestimmt worden war.

Die Auswertung der Therapie-Studie (Abb.18,19) ergab eine vergleichbar signifikante Beeinflussung der Plättchenaggregation (Tab.8) wie bei der ADP-induzierten TA (Tab.6,7). Der Bedarf an Kollagen als aggregations-auslösender Substanz stieg nach einer Behandlung mit Pentoxifyllin (+77,8% $\pm$ 89,5%) oder ASS (+227,8% $\pm$ 205,2%) an. Die zusätzlich durchgeführte Auswertung der jeweils ersten Behandlungsphase unter beiden Therapie-schemata führte zu dem gleichen signifikanten Ergebnis (Tab.9): Pentoxifyllin +100% $\pm$ 100%; ASS +311,1% $\pm$ 257,1%.

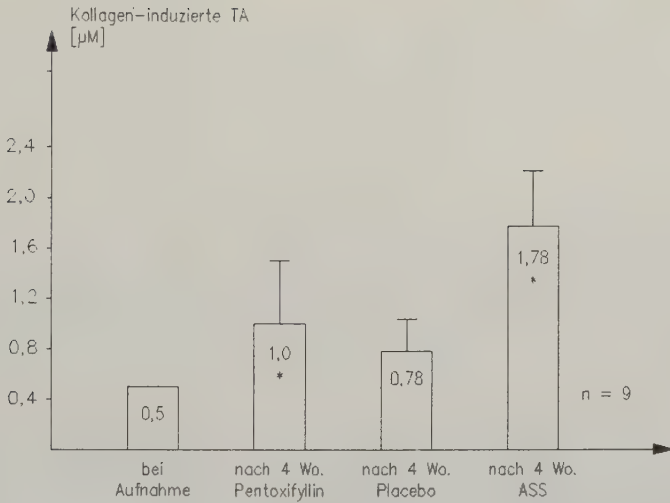


Abb.18: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die Kollagen-induzierte TA im Therapieschema I (* signifikant)

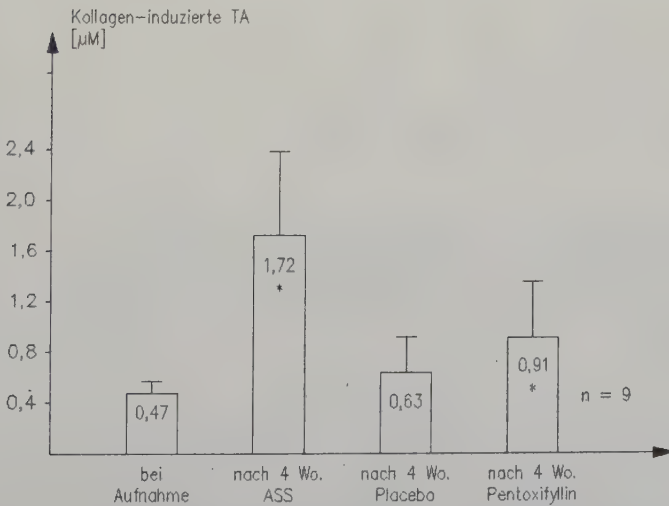


Abb.19: Graphische Darstellung der Ergebnisse für die Kollagen-induzierte TA im Therapieschema II (* signifikant)

Kollagen-induzierte TA (μ M)	x	s	p	n
Ausgangswert	0,48	$\pm$ 0,07		18
Placebowert	0,71	$\pm$ 0,28		18
unter Pentoxifyllin	0,96	$\pm$ 0,46		18
%-Diff. unter Pentoxifyllin	77,8%	$\pm$ 89,5%	$p < 0,05$	18
unter ASS	1,75	$\pm$ 0,55		18
%-Diff. unter ASS	227,8%	$\pm$ 205,2%	$p < 0,05$	18

Tab.8: Darstellung der Ergebnisse der Kollagen-induzierten TA in einer Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung der Reihenfolge der Medikation.

Kollagen-induzierte TA (μ M)	x	s	p	n
Ausgangswert Schema I	0,5	$\pm$ 0		9
unter Pentoxifyllin	1,0	$\pm$ 0,5		9
%-Diff. unter Pentoxifyllin	100%	$\pm$ 100%	$p < 0,05$	9
Ausgangswert Schema II	0,47	$\pm$ 0,1		9
unter ASS	1,72	$\pm$ 0,67		9
%-Diff. unter ASS	311,1%	$\pm$ 257,1%	$p < 0,05$	9

Tab.9: Darstellung der Ergebnisse der Kollagen-induzierten TA in der jeweils ersten Behandlungsphase der beiden Therapieschemata

3.3.2. β -Thromboglobulin

Für β -TG fanden wir im Vergleich zur Kontrollgruppe einen erhöhten Plasma-Spiegel. Die Werte betrugen für die Kontrollgruppe $58,3 \pm 10,0$ ng/ml, für die Diabetiker 106 ± 68 ng/ml (Tab.10).

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse unter Pentoxifyllin- oder ASS-Therapie ergab weder bei der Gesamtanalyse der Ergebnisse ohne Berücksichtigung der Therapiereihenfolge, noch bei der getrennten Berechnung der Daten der jeweils ersten Behandlungsphase eine signifikante Änderung des Parameters (Tab.31, Anhang).

	Diabetiker	Kontrollgruppe	p
ADP-ind. TA (μ M)	$1,11 \pm 0,24$	$1,94 \pm 0,12$	+
β -TG (ng/ml)	106 ± 68	$58,3 \pm 10,0$	+
TXB ₂ (ng/ml)	$0,137 \pm 0,134$	$0,028 \pm 0,006$	+
6-Keto-PGF ₁ α (ng/ml)	$0,068 \pm 0,030$	$0,034 \pm 0,004$	+

Tab.10: Darstellung der Ergebnisse für die ADP-induzierte TA, β -Thromboglobulin (β -TG), Thromboxan B₂ (TXB₂) und 6-Keto-PGF₁ α im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.3.3. Thromboxan B₂

In der jetzigen Studie fanden wir einen deutlich erhöhten TXB₂-Spiegel der Diabetiker gegenüber der gesunden Kontrollgruppe (Tab.10). Die Werte betrugen für das Kontrollkollektiv $0,028 \pm 0,006$ ng/ml, für die Diabetiker $0,137 \pm 0,134$ ng/ml (Tab.10).

Die Ergebnisse der Medikamenten-Studie (Abb.20,21) ergaben für TXB₂ unter Therapie mit ASS eine signifikante ($p < 0,05$) Senkung, sowohl bei der Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung der Reihenfolge der Medikationsgabe ($41,5\% \pm 54,3\%$; Tab.11), als auch bei der Auswertung der ersten Phase des Therapieschemas II ($-54,9\% \pm 50,4\%$; Tab.12).

Unter Pentoxifyllin konnte man eine zum Teil stark ausgeprägte individuelle Erhöhung des Thromboxan B₂-Gehaltes im Blut bei einzelnen Patienten beobachten, was aber aufgrund der großen Streubreite der Meßwerte keine statistisch signifikante Erhöhung insgesamt bewirkte (Tab.31, Anhang).

TXB ₂ (ng/ml)	x	s	p	n
Ausgangswert	$0,137 \pm 0,134$			18
Placebowert	$0,091 \pm 0,070$			18
unter ASS	$0,053 \pm 0,044$			18
%-Diff. unter ASS	$-41,5\% \pm 54,3\%$			$p < 0,05$ 18

Tab.11: Darstellung der Ergebnisse für TXB₂ bei der Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung der Medikationsreihenfolge

TXB ₂ (ng/ml)	x	s	p	n
Ausgangswert				
Schema II	0,121	± 0,078		9
unter ASS	0,042	± 0,042		9
%-Diff.				
unter ASS	-54,9%	± 50,4%	p< 0,05	9

Tab.12: Darstellung der Ergebnisse für TXB₂ in der ersten Behandlungsphase des Therapieschemas II

3.3.4. 6-Keto-PGF_{1α}

Der Vergleich der 6-Keto-PGF_{1α} -Werte mit der Kontrollgruppe ergab für die Diabetiker erhöhte Werte. Sie betrugen für die gesunde Kontrollgruppe 0,034 ± 0,004 ng/ml, für die diabetischen Patienten 0,068 ± 0,030 ng/ml (Tab.10).

Die statistische Auswertung der Ergebnisse unter der Therapie mit Pentoxifyllin oder ASS ergab weder bei der Gesamtanalyse der Werte ohne Berücksichtigung der Reihenfolge der Medikation, noch bei der gesonderten Auswertung der ersten Phase beider Therapieschemata eine signifikante Änderung des Parameters (Tab.31, Anhang).

3.4. Gerinnungsparameter

Im Rahmen der Untersuchungen wurden folgende Meßgrößen zur Bewertung der plasmatischen Gerinnung bestimmt:

- PTT (Partielle Thromboplastin-Zeit)
- Quick-Wert (Prothrombin-Zeit)
- Antithrombin III
- Plasminogen

3.4.1. PTT

Die in dieser Studie ermittelten Werte für die PTT lagen für die Diabetiker innerhalb des Normbereiches. Sie betrugen $23,2 \pm 1,9$ s bei einem Normbereich von 18-28 s.

Innerhalb der Therapie-Studie ließ sich eine statistisch signifikante ($p < 0,05$) Verlängerung der PTT unter ASS feststellen, sowohl bei der Gesamtanalyse der Meßergebnisse ohne Berücksichtigung der Reihenfolge der Medikation ($+5,2\% \pm 8,7\%$, Tab.13), als auch in der gesonderten Auswertung der ersten Phase des Therapieschemas II ($+5,7\% \pm 10,6\%$, Tab.14). Aber auch unter Pentoxifyllin-Therapie zeigte sich bei der Auswertung der Ergebnisse für die erste Phase des Therapieschemas I eine signifikante ($p < 0,05$) Verlängerung der PTT ($+7,2\% \pm 5,5\%$, Tab.14), die im Gesamtkollektiv nicht erkennbar war (Tab.31, Anhang).

PTT (s)	x	s	p	n
Ausgangswert	23,2	± 1,9		18
Placebowert	24,5	± 2,0		18
unter ASS	24,8	± 2,0		18
%-Diff. unter ASS	5,2%	± 8,7%	p< 0,05	18

Tab. 13: Darstellung der Ergebnisse für die PTT unter ASS-Therapie in einer Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung des Therapie-Schemas

PTT (s)	x	s	p	n
Ausgangswert Schema I	23,6	± 1,9		9
unter Pentoxifyllin	25,2	± 2,0		9
%-Diff. unter Pentoxifyllin	7,2%	± 5,5%	p< 0,05	9
Ausgangswert Schema II	22,8	± 2,0		9
unter ASS	24,0	± 2,4		9
%-Diff. unter ASS	5,7%	± 10,6%	p< 0,05	9

Tab. 14: Darstellung der Ergebnisse für die PTT in der jeweils ersten Phase der beiden Therapiecyclen

3.4.2. Andere Gerinnungsparameter

Während wir für den Quick-Wert mit $100\% \pm 0\%$ absolut im Normbereich liegende Werte vorfanden, zeigte sich der Antithrombin III-Spiegel mit $83,4 \pm 16,1\%$ d.Norm nur im unteren Normbereich oder darunter (Normbereich: 80-120% d.Norm), ebenso wie der Plasminogen-Spiegel mit $78,1 \pm 11,2\%$ d.Norm (Normbereich 75-140% d.Norm). Die ebenfalls in die Gerinnung oder Fibrinolyse eingreifenden großen Proteinmoleküle Fibrinogen und α_2 -Makroglobulin wurden schon unter den hämorheologischen Parametern aufgeführt (s.3.1.5. und 3.1.6.).

Die Auswertung der Medikamenten-Studie ergab außer für Fibrinogen (s.3.1.5.) für keinen Gerinnungs-Parameter eine Beeinflussung durch die Therapie mit Pentoxifyllin oder ASS (Tab.31, Anhang). Dieses Ergebnis zeigte sich bei der Gesamtanalyse ohne Berücksichtigung der Therapie-Reihenfolge und auch bei der getrennten Berechnung der Werte in der jeweils ersten Phase beider Therapiecyclen.

3.5. Klinisch-chemische Parameter

Im Rahmen der Untersuchungen der klinischen Chemie wurden folgende Parameter bestimmt:

- Blutbild (Erythrozytenzahl, Hb, Hk, Leukozyten, Thrombozyten)
- Lipide (Cholesterin, Triglyceride)
- Diabetische Parameter (Glucose, HbA_{1c})

3.5.1. Blutbild-Parameter

Bei der Auswertung der einzelnen Blutbild-Parameter, Erythrozytenzahl, Hb, Hk, Leukozytenzahl und Thrombozytenzahl ergaben sich keine außerhalb der Normbereiche liegenden Werte.

Ebenso zeigte sich keine signifikante Beeinflussung der Parameter durch eine Therapie mit Pentoxifyllin oder ASS, weder bei der Gesamtanalyse, noch bei der gesonderten Auswertung der jeweils ersten Therapiephase.

3.5.2. Lipide

Die Untersuchungsergebnisse über die Blutfette zeigten für Cholesterin mit 149 ± 31 mg/dl weit im Normbereich liegende Werte (Normbereich < 220 mg/dl). Für die Triglycerid-Werte fanden wir jedoch mit 157 ± 45 mg/dl eine deutliche Erhöhung gegenüber dem Normbereich (50-150 mg/dl).

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse unter der Therapie mit Pentoxifyllin und ASS ergab keine signifikante Änderung der Lipidwerte durch die Medikamente.

3.5.3. Diabetische Parameter

Die Diabetes-spezifischen Parameter Glucose und HbA_{1c} wurden bereits unter dem Punkt 3.1. Diabetische Stoffwechsellaage besprochen.

3.6. Korrelationsberechnungen

Für die Korrelationsberechnungen zwischen den einzelnen Parametern wurden ebenso wie bei den Vergleichen mit der gesunden Kontrollgruppe nur die Ausgangswerte der Medikamenten-Studie verwendet, um jegliche Beeinflussung der Parameter durch Pentoxifyllin oder ASS auszuschließen. Es wurde jeweils die Frage nach der linearen Korrelation zwischen zwei Parametern gestellt. Das Signifikanzniveau lag bei mindestens $\alpha = 0,05$. Andere Signifikanzniveaus werden gesondert angegeben.

3.6.1. Korrelationen mit den hämorrheologischen Parametern

Im Rahmen der Korrelationsberechnungen wurden den hämorrheologischen Parametern Erythrozytenfiltrierbarkeit, VBV nativ und Hk-45-korrigiert bei jeweils drei Schergeschwindigkeiten, Erythrozytenaggregation und Plasmaviskosität die variablen Parameter Fibrinogen, $\alpha 2$ -Makroglobulin, Antithrombin III, Plasminogen, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF₁ α , Cholesterin, Triglyceride, Glucose, HbA_{1c} und einzelne Blutbild-Parameter, sowie Diabetesdauer und Lebensalter gegenübergestellt.

3.6.1.1. Erythrozytenfiltrierbarkeit

Signifikante Korrelationen ergaben sich mit der EF bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ mit der korrigierten VBV bei Schergrad I ($r = 0,426$), mit $\alpha 2$ -Makroglobulin ($r = 0,491$), mit Cholesterin ($r = 0,468$) und mit Glucose ($r = 0,426$) (Tab.15).

Erythrozytenfiltrierbarkeit

VBV _n (0,7 s-1)	r = -0,035	
VBV _n (2,4 s-1)	r = -0,134	
VBV _n (94,5 s-1)	r = -0,122	
VBV _k (0,7 s-1)	r = 0,426	+
VBV _k (2,4 s-1)	r = 0,317	
VBV _k (94,5 s-1)	r = 0,165	
EA	r = 0,247	
Fibrinogen	r = 0,280	
α ₂ -Makroglobulin	r = 0,491	+
β-TG	r = 0,092	
6-Keto-PGF ₁ α	r = 0,115	
TXB ₂	r = -0,371	
Antithrombin III	r = 0,231	
Plasminogen	r = 0,318	
Cholesterin	r = 0,468	+
Triglyceride	r = 0,162	
Glucose	r = -0,426	+
HbA _{1c}	r = 0,099	
Leucozyten	r = 0,290	
Diabetesdauer	r = -0,271	
Lebensalter	r = -0,277	

Tab.15: Korrelationen mit der Erythrozytenfiltrierbarkeit
(+: signifkant)

3.6.1.2. native VBV

Signifikante Korrelationen ergaben sich für die native VBV bei drei Schergeschwindigkeiten bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ mit Fibrinogen bei Schergrad III ($r = 0,432$) und mit TXB₂ bei allen drei Schergeschwindigkeiten (s_1 : $r = 0,426$; s_2 : $r = 0,439$; s_3 : $r = 0,405$) (Tab.16).

	VBVn $s_1 = 0,7 s^{-1}$	VBVn $s_2 = 2,4 s^{-1}$	VBVn $s_3 = 94,5 s^{-1}$
Fibrinogen	$r = -0,228$	$r = -0,357$	$r = 0,432+$
α_2 -Makroglobulin	$r = -0,003$	$r = -0,103$	$r = -0,142$
β -TG	$r = 0,071$	$r = 0,039$	$r = 0,004$
TXB ₂	$r = 0,426+$	$r = 0,439+$	$r = 0,405$
6-Keto-PGF ₁ α	$r = 0,134$	$r = -0,025$	$r = -0,067$
Antithrombin III	$r = 0,063$	$r = -0,051$	$r = 0,077$
Plasminogen	$r = -0,172$	$r = -0,318$	$r = 0,185$
Cholesterin	$r = 0,113$	$r = 0,002$	$r = 0,049$
Triglyceride	$r = 0,041$	$r = 0,083$	$r = 0,142$
Glucose	$r = -0,038$	$r = 0,073$	$r = 0,144$
HbA _{1c}	$r = 0,146$	$r = -0,011$	$r = 0,026$
Erythrozyten	$r = 0,734++$	$r = 0,760++$	$r = 0,765++$
Leukozyten	$r = 0,168$	$r = 0,054$	$r = 0,127$
Thrombozyten	$r = -0,060$	$r = 0,091$	$r = 0,090$
Lebensalter	$r = 0,355$	$r = 0,413$	$r = 0,313$

Tab.16: Korrelationen mit der nativen VBV bei drei Schergeschwindigkeiten (+ = signifikant = $p < 0,05$; ++ = hochsignifikant = $p < 0,005$)

3.6.1.3. korrigierte VBV

Für die Hk-45-korrigierte VBV ergaben sich signifikante ($p < 0,05$) Korrelationen mit Fibrinogen bei Schergrad I ($r = 0,473$), mit α_2 -Makroglobulin bei Schergrad II ($r = 0,432$), mit Plasminogen bei Schergrad I ($r = 0,507$) und mit den Triglyceriden bei Schergrad I ($r = 0,438$) (Tab.17).

Hochsignifikante Korrelationen ($p < 0,01$) mit der VBV_k wurden für α_2 -Makroglobulin bei Schergrad I ($r = 0,545$), für die Triglyceride bei Schergrad II und III ($s_2: r = 0,661$); $s_3: r = 0,704$) sowie für die Erythrozytenzahl bei Schergrad I ($r = 0,607$) festgestellt (Tab.17).

3.6.1.4. Erythrozytenaggregation

Bei den Korrelationsberechnungen mit der EA ergaben sich signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) mit dem Fibrinogen-Gehalt ($r = 0,443$) und der nativen VBV bei Schergrad I und III ($s_1: r = 0,509$; $s_3: r = 0,529$)

Hochsignifikante Korrelationen ($p < 0,01$) zeigten sich mit der nativen VBV bei Schergrad II ($r = 0,619$), mit der Hk-45-korrigierten VBV bei Schergrad I ($r = 0,571$), sowie mit dem Plasminogenspiegel ($r = 0,556$) (Tab.18).

	VBV _k s ₁ = 0,7 s ⁻¹	VBV _k s ₂ = 2,4 s ⁻¹	VBV _k s ₃ = 94,5 s ⁻¹
Fibrinogen	r = 0,473+	r = 0,141	r = -0,205
α ₂ -Makroglobulin	r = 0,545++	r = 0,432+	r = 0,294
β-TG	r = 0,209	r = 0,128	r = 0,053
TXB ₂	r = -0,170	r = -0,119	r = -0,097
6-Keto-PGF ₁ α	r = 0,280	r = 0,099	r = -0,251
Antithrombin III	r = 0,044	r = -0,178	r = 0,125
Plasminogen	r = 0,507+	r = 0,282	r = 0,329
Cholesterin	r = 0,272	r = 0,073	r = -0,095
Triglyceride	r = 0,438+	r = 0,661++	r = 0,704++
Glucose	r = 0,221	r = 0,303	r = 0,389
HbA _{1c}	r = 0,076	r = -0,091	r = 0,053
Erythrozyten	r = -0,607++	r = -0,375	r = -0,105
Leukozyten	r = -0,106	r = -0,268	r = -0,134
Thrombozyten	r = -0,092	r = -0,226	r = -0,228
Lebensalter	r = -0,132	r = -0,036	r = -0,170

Tab.17: Korrelationen mit der Hk-45-korrigierten VBV bei drei Schergeschwindigkeiten (+= signifikant = p < 0,05; ++= hochsignifikant = p < 0,01)

Erythrozytenaggregation

VBVn(0,7s-1)	r = 0,509	+
VBVn(2,4s-1)	r = 0,619	++
VBVn(94,5s-1)	r = 0,529	+
VBVk(0,7s-1)	r = 0,571	++
VBVk(2,4s-1)	r = 0,355	
VBVk(94,5s-1)	r = 0,326	
Fibrinogen	r = 0,443	+
α 2-Makroglobulin	r = 0,224	
BTG	r = 0,200	
TXB ₂	r = -0,133	
6-Keto-PGF ₁ α	r = 0,011	
Antithrombin III	r = 0,164	
Plasminogen	r = 0,556	++
Cholesterin	r = -0,131	
Triglyceride	r = 0,087	
Glucose	r = 0,120	
HbA _{1c}	r = 0,253	
Diabetesdauer	r = -0,240	

Tab.18: Korrelationen mit der EA (+= signifikant = $p < 0,05$; ++= hochsignifikant = $p < 0,01$).

3.6.1.5. Plasmaviskosität

Statistisch signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) ergaben sich für die PV mit der ADP-induzierten TA ($r = 0,466$), dem Plasminogengehalt ($r = 0,501$) und der Diabetesdauer ($r = 0,548$).

Hochsignifikante Korrelationen ($p < 0,01$) zeigten sich mit dem Fibrinogengehalt ($r = 0,552$) und der Kollagen-induzierten TA ($r = 0,571$) (Tab.19).

	Plasmaviskosität	
-----	-----	
Erythrozytenfiltrierbarkeit	$r = 0,101$	
Erythrozytenaggregation	$r = -0,082$	
Fibrinogen	$r = 0,552$	++
α_2 -Makroglobulin	$r = 0,185$	
β -TG	$r = 0,236$	
TXB ₂	$r = 0,167$	
6-Keto-PGF _{1\alpha}	$r = 0,244$	
Antithrombin III	$r = 0,354$	
Plasminogen	$r = 0,501$	+
Cholesterin	$r = 0,393$	
Triglyceride	$r = 0,307$	
Glucose	$r = -0,175$	
HbA _{1c}	$r = -0,230$	
TA - ADP-induziert	$r = -0,466$	+
TA - Kollagen-induziert	$r = -0,571$	++
Diabetesdauer	$r = 0,548$	+

Tab.19: Korrelationen mit der Plasmaviskosität (+= signifikant = $p < 0,05$; ++= hochsignifikant = $p < 0,01$)

3.6.2. Korrelationen mit den antithrombotischen und Gerinnungs-Parametern

3.6.2.1. ADP-induzierte TA

Bei den Korrelationsberechnungen wurde die benötigte ADP-Schwellenkonzentration den variablen Parametern Erythrozytenfiltrierbarkeit, VBV nativ und Hk-45-korrigiert, Erythrozytenaggregation, Plasmaviskosität, Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF₁ α , Plasminogen, Antithrombin III, Glucose, HbA_{1c}, Cholesterin, Triglyceride sowie Lebensalter und Diabetesdauer gegenübergestellt (Tab.20).

Signifikante ($p < 0,05$) Korrelationen ergaben sich dabei mit der EF ($r = -0,460$), dem Plasminogengehalt ($r = -0,537$) und der PV ($r = -0,466$; Tab.19).

ADP-induzierte TA

Erythrozytenfiltrierbarkeit	r = -0,460	+
VBVn(0,7s-1)	r = 0,232	
VBVn(2,4s-1)	r = 0,233	
VBVn(94,5s-1)	r = 0,188	
VBVk(0,7s-1)	r = -0,264	
VBVk(2,4s-1)	r = -0,214	
VBVk(94,5s-1)	r = -0,149	
Erythrozytenaggregation	r = -0,006	
Fibrinogen	r = -0,121	
α_2 -Makroglobulin	r = -0,161	
β -TG	r = 0,099	
TXB ₂	r = 0,388	
6-Keto-PGF ₁ α	r = 0,077	
Antithrombin III	r = -0,391	
Plasminogen	r = -0,537	+
Cholesterin	r = -0,249	
Triglyceride	r = -0,397	
Glucose	r = 0,339	
HbA _{1c}	r = 0,148	
Diabetesdauer	r = -0,261	
Lebensalter	r = 0,126	

Tab.20: Korrelationen mit der ADP-induzierten TA (+=
signifikant, $p < 0,05$)

3.6.2.2. Antithrombin III

Signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) ergaben sich für Antithrombin III bei Gegenüberstellung mit Fibrinogen, $\alpha 2$ -Makroglobulin, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF₁ α , Plasminogen und der Thrombozytenzahl nur für Plasminogen ($r = 0,534$) und die Thrombozytenzahl ($r = 0,593$), wobei die Thrombozytenzahl sogar hochsignifikant ($p < 0,01$) korrelierte (Tab.21).

	Antithrombin III
Fibrinogen	$r = 0,072$
$\alpha 2$ -Makroglobulin	$r = 0,047$
β -TG	$r = 0,012$
TXB ₂	$r = -0,188$
6-Keto-PGF ₁ α	$r = -0,098$
Plasminogen	$r = 0,534$ +
Thrombozytenzahl	$r = 0,593$ ++

Tab.21: Korrelationen mit dem Antithrombin III-Spiegel
(+= signifikant = $p < 0,05$; ++= hochsignifikant = $p < 0,01$)

2.6.2.3. Plasminogen

Die Korrelationsberechnungen für Plasminogen ergaben bei Gegenüberstellung mit Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF₁ α und der Thrombozytenzahl keine statistisch signifikante Korrelation (Tab.22). Signifikante Korrelationen hatten sich zuvor schon mit der Hk-45-korrigierten VBV bei Schergrad I (r = 0,507; Tab.17), der Erythrozytenaggregation (r = 0,556; Tab.18), der Plasma-viskosität (r = 0,501; Tab.19), der ADP-induzierten TA (r = 0,537; Tab.20) und mit Antithrombin III (r = 0,534; Tab.21) gezeigt, wobei die Korrelation mit der Erythrozytenaggregation sogar hochsignifikant (p < 0,01) ausfiel.

	Plasminogen
Fibrinogen	r = 0,296
α_2 -Makroglobulin	r = 0,313
β -TG	r = 0,089
TXB ₂	r = -0,165
6-Keto-PGF ₁ α	r = 0,179
Thrombozytenzahl	r = 0,258

Tab.22: Korrelationen mit dem Plasminogengehalt im Blut

3.6.2.4. Thromboxan B₂

Bei Gegenüberstellung von TXB₂ mit Fibrinogen, β -TG, 6-Keto-PGF_{1 α} sowie der Thrombozytenzahl ergab sich eine statistisch signifikante Korrelation ($p < 0,05$) mit 6-Keto-PGF_{1 α} ($r = 0,489$) (Tab.23).

Zuvor hatte sich schon eine signifikante Korrelation mit der nativen VBV bei allen drei Schergeschwindigkeiten gezeigt (VBVn(0,7s-1): $r = 0,426$; VBVn(2,4s-1): $r = 0,439$; VBVn(34,5s-1): $r = 0,405$; Tab.16).

Thromboxan B₂

Fibrinogen	$r = 0,050$
β -TG	$r = 0,317$
6-Keto-PGF _{1α}	$r = 0,489$ +
Thrombozytenzahl	$r = -0,156$

Tab.23: Korrelationen mit Thromboxan B₂ (+= signifikant = $p < 0,05$)

3.6.2.5. 6-Keto-PGF_{1α}

Die Korrelationsberechnungen für 6-Keto-PGF_{1α} mit Fibrinogen, β-TG und der Thrombozytenzahl ergaben kein statistisch signifikantes Ergebnis (Tab.24). Zuvor hatte sich eine signifikante Korrelation ($p < 0,05$) mit TXB₂ ($r = 0,489$; Tab.23) gezeigt.

	6-Keto-PGF _{1α}

Fibrinogen	$r = 0,159$
β-TG	$r = 0,341$
Thrombozytenzahl	$r = 0,096$

Tab.24: Korrelationen mit dem 6-Keto-PGF_{1α} -Spiegel

3.6.2.6. β-TG

Bei Gegenüberstellung des Thrombozyten-spezifischen β-TG mit Fibrinogen und der Thrombozytenzahl ergab sich eine signifikante negative Korrelation ($p < 0,05$) mit der Thrombozytenzahl ($r = 0,415$) (Tab.25).

	β-TG

Fibrinogen	$r = 0,359$
Thrombozytenzahl	$r = -0,415$ +

Tab.25: Korrelationen mit β-Thromboglobulin (+ = signifikant, $p < 0,05$).

3.6.3. Korrelationen mit der Diabetesdauer

Im Rahmen der Korrelationsberechnungen wurden der Diabetesdauer die variablen Parameter Plasmaviskosität, VBV nativ und Hk-45-korrigiert bei drei Schergeschwindigkeiten, Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF₁ α , Plasminogen, Antithrombin III, Cholesterin, Triglyceride und die Retinopathie-Stadien gegenübergestellt (Tab.26).

Statistisch signifikante ($p < 0,05$) Korrelationen ergaben sich mit der PV ($r = 0,548$; $p < 0,01$) und der nativen VBV in den beiden niedrigen Scherbereichen (s₁: $r = 0,494$; s₂: $r = 0,437$;).

Eine hochsignifikante Korrelation ($p < 0,005$) zeigte sich zwischen der Diabetesdauer und den Retinopathiestadien ($r = 0,764$).

	Diabetesdauer	
Plasmaviskosität	$r = 0,548$	++
VBVn(0,7s-1)	$r = 0,494$	+
VBVn(2,4s-1)	$r = 0,437$	+
VBVn(94,5s-1)	$r = 0,406$	
VBVk(0,7s-1)	$r = 0,003$	
VBVk(2,4s-1)	$r = 0,034$	
VBVk(94,5s-1)	$r = 0,040$	
Fibrinogen	$r = 0,058$	
α_2 -Makroglobulin	$r = 0,187$	
β -TG	$r = 0,306$	
TXB ₂	$r = 0,381$	
6-Keto-PGF ₁ α	$r = 0,142$	
Plasminogen	$r = 0,315$	
Antithrombin III	$r = 0,086$	
Cholesterin	$r = -0,152$	
Triglyceride	$r = 0,373$	
Retinopathiestadien	$r = 0,764$	+++

Tab.26: Korrelationen mit der Diabetesdauer (+= $p < 0,05$;
 ++= $p < 0,01$; +++= $p < 0,005$) (n = 16;
 Retinopathiestadien n = 12)

3.6.4. Korrelationen mit den Retinopathiestadien

Den Retinopathiestadien wurden im Rahmen der Korrelationsberechnungen die variablen Parameter Erythrozytenfiltrierbarkeit, VBV nativ und Hk-45-korrigiert bei drei Schergeschwindigkeiten, Erythrozytenaggregation Plasmaviskosität, Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin, ADP- und Kollagen-indzierte TA, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF_{1 α} , Plasminogen, Antithrombin III, Cholesterin und die Triglycerid-Werte gegenübergestellt (Tab.27).

Eine statistisch signifikante Korrelation ($p < 0,05$) fand sich dabei mit β -TG ($r = 0,590$). Zuvor war eine hochsignifikante Korrelation ($p < 0,005$) mit der Diabetesdauer festgestellt worden ($r = 0,764$; Tab.26).

	Retinopathiestadien
Erythrozytenfiltrierbarkeit	$r = 0,032$
VBVn(0,7s-1)	$r = 0,270$
VBVn(2,4s-1)	$r = 0,212$
VBVn(94,5s-1)	$r = 0,274$
VBVk(0,7s-1)	$r = 0,072$
VBVk(2,4s-1)	$r = -0,011$
VBVk(94,5s-1)	$r = -0,014$
Erythrozytenaggregation	$r = 0,028$
Plasmaviskosität	$r = 0,406$
Fibrinogen	$r = 0,169$
α_2 -Makroglobulin	$r = 0,284$
TA - ADP-induziert	$r = -0,211$
TA - Kollagen-induziert	$r = -0,167$
β -TG	$r = 0,590$ +
TXB ₂	$r = -0,022$
6-Keto-PGF ₁ α	$r = -0,256$
Plasminogen	$r = 0,456$
Antithrombin III	$r = 0,267$
Cholesterin	$r = -0,007$
Triglyceride	$r = 0,296$

Tab.27: Korrelationen mit den Retinopathiestadien (+=
signifikant, $p < 0,05$) (n = 13)

4. DISKUSSION

4.1. Antithrombotische Parameter

4.1.1. Zum heutigen Stand der Thrombozytenforschung

Durch die Entdeckung, daß Thrombozyten an der Pathogenese von Gefäßkrankheiten beteiligt sind, und durch den Nachweis der Gefäß- und Thrombozyten- aktiven Prostaglandine hat die Thrombozytenforschung in den letzten Jahren eine nahezu explosionsartige Entwicklung erfahren. Dabei wird heute der Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion mit Adhäsion der Thrombozyten an freiliegender Basalmembran und der dadurch bedingten Aggregation, der sogenannten "The Basic Platelet Reaction", die zur Freisetzung von Plättcheninhaltsstoffen führt, eine bedeutende Rolle zugeschrieben (95).

In den vergangenen Jahren fanden sich dabei zunehmend Beweise für die einst von Virchow aufgestellte These, daß am Beginn der Atherosklerose ein Endothelschaden stehe, der zur Ausbildung atheromatöser Plaques führe (8,33,64,67,87, 165,171,208). Die an dieses Leck in der Intima anheftenden Thrombozyten setzen einen hormonähnlichen Wachstumsfaktor frei, der zur Proliferation glatter Muskelzellen in der Tunica media führt. Diese proliferativen Schädigungen führen über fibröse Plaques, streifige Fetteinlagerungen und cholesterinreiche atheromatöse Beete zur Atherombildung. Weiterhin bewirkt die Adhäsion von Thrombozyten an einen Intimaschaden eine Sekretion von Plättcheninhaltsstoffen, wie ADP und Thromboxan A₂, die die Aggregation zirkulierender Thrombozyten fördern (84,87,208). Während in der Regel jedoch durch

Regeneration des Gefäßendothels eine Verletzung ohne bleibenden Schaden ausheilt, führt wiederholte Schädigung derselben Stelle zu chronischer Adhäsion von Plättchen und damit zu einem pathologischen "Reparaturprozeß", der Atherombildung (87,171,208).

Soweit heute bekannt ist, gibt es drei ineinander greifende Prozesse, die für den Aggregationsvorgang verantwortlich sind: Die Thromboxan A₂-Synthese, die Ca²⁺-Mobilisation und die Freisetzungsreaktion von Plättcheninhaltsstoffen (132).

Die Aktivierung des Arachidonsäure-Metabolismus und damit die Bildung von TXA₂ (84,87,208), sowie der intrazelluläre Ca²⁺-Anstieg führen über ein Absinken der cAMP-Konzentration durch Hemmung der Adenylatcyclase zur intensivierten Ca²⁺-Mobilisierung und zur Freisetzungsreaktion. TXA₂ ist ein potenter Induktor der Thrombozytenaggregation (87,88,96,174), sein Gegenspieler an der Gefäßwand ist Prostacyclin (PGI₂), der stärkste Aggregationshemmer (87,148,170,187,208). PGI₂ inhibiert die Plättchenaggregation über die Stimulierung der Adenylatcyclase, ein Effekt, der zum Anstieg von cAMP im Thrombozyten führt (27,61,73,145,148,199).

Aus dem Genannten ist ersichtlich, daß eine Störung des Gleichgewichtes zwischen TXA₂ und PGI₂ zu Störungen der Hämostase führt, d.h. zu Blutungsneigung oder Thrombose.

Da die Thrombozyten eine bedeutende Rolle in der Pathogenese von Angiopathien spielen, ist es verständlich, daß sich eine große Zahl von Forschungsgruppen mit der Frage der Thrombozytenfunktion bei Diabetikern beschäftigte, weil diese Patienten besonders zu mikro- und makroangiopathischen Komplikationen neigen (101,103,104).

4.1.2` Thrombozytenaggregation

Während über einige Funktionstests nur Einzelberichte vorliegen, finden sich zahlreiche Angaben über Messungen der TA bei Diabetikern in der Literatur. Der Grund dafür liegt wohl in der relativ einfachen Durchführung des von Born (13) entwickelten nephelometrischen Verfahrens. Außerdem gilt die TA als "the basic platelet reaction" (95).

Die Ergebnisse der Autoren waren jedoch widersprüchlich: Die TA wurde als erhöht (66,89,92), normal (36,81,158) und als verändert (32,117,173) beschrieben.

Gründe hierfür dürften der bekannt hohe Variationskoeffizient der Thrombozytenfunktionstests sowie die geringe Anzahl von Probanden in den meisten Studien sein (Tab.28). Daten über das Ausmaß der Thrombozytenaggregabilität sind allerdings in der Literatur schwer vergleichbar, da der Aggregationsvorgang nach unterschiedlichen Zeiten gemessen oder die Aggregationswelle verschieden quantifiziert wurde. Zum Teil wurden nur "chart units" (36) oder nur die Angabe "beschleunigte" oder "nicht beschleunigte" TA gemacht (154). Andere Autoren werteten nur das Auftreten einer zweiten TA-Welle (76) oder bildeten diverse Indices (1,36,206). Auch die verwendeten Konzentrationen der TA-Induktoren schwanken von 0,25 μM (158) bis 10 μM ADP (160).

Autor	Jahr	Pat.-Zahl	Ergebnis
Haanen (81)	1968	47	-
Heath (89)	1971	72	+
O'Malley (154)	1975	20	+
Colwell (32)	1976	51	+
Davis (36)	1978	56	-
Petersen (158)	1978	38	-
Porta (160)	1980	35	-
Janka (102)	1983	509	+

Tab.28: ADP-induzierte TA bei Diabetikern
(+ gesteigerte, - nicht gesteigerte Aggregation)

In den letzten Jahren hat sich das von Burrows (21) vorgeschlagene Verfahren mit Bildung einer "dose-response"-Kurve und steigenden Konzentrationen des Aggregations-induktors und Ermittlung des 50%-Wertes der maximalen TA durchgesetzt, da es sich aus vier Werten zusammensetzt und dadurch größere Aussagekraft als eine Einzelbestimmung besitzt. Es ist graphisch gut darstellbar und der Wert läßt sich mit Hilfe einer Lineweaver-Burk-Geraden errechnen. Dieses Verfahren fand auch in der vorliegenden Arbeit Verwendung.

Die meisten der in Tab.28 aufgezählten Studien berücksichtigten weder die Stoffwechsellage noch die Gefäßkomplikationen der Patienten. So erhielten Burrows et al. (21) bei 20 Diabetikern, von denen zwei Drittel Gefäßkomplikationen hatten, einen 50%-TA-Wert von 0,64 μM ADP, während Petersen et al. (158) bei 38 Diabetikern ohne Differenzierung der Angiopathie einen Durchschnittswert von etwa 2,0 μM ADP als 50%-TA-Wert ermittelten. Janka (102)

konnte 1983 bei einem als repräsentativ anzusehenden Patientenkollektiv eine gesteigerte TA bei Diabetikern, vor allem mit Mikroangiopathie, nachweisen.

In der vorliegenden Arbeit konnten diese Ergebnisse von Janka nur teilweise bestätigt werden. Die bei den untersuchten Diabetikern vorhandene normnahe Einstellung des Blutzuckers verhinderte nicht eine gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöhte Aggregabilität der Thrombozyten (K: $1,94 \pm 0,12 \mu\text{M ADP}$, D: $1,11 \pm 0,24 \mu\text{M ADP}$). Es fand sich jedoch keine signifikante Korrelation der ADP-induzierten TA mit der Diabetesdauer. Ebenso zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der ADP-induzierten TA und den Retinopathiestadien. Dies mag einerseits auf die optimale Einstellung der an der Studie teilnehmenden Patienten zurückzuführen sein. Andererseits wiesen die Probanden in der Regel nur das Retinopathiestadium I - II auf.

Die Ursache der gesteigerten in vitro-Reaktivität der Thrombozyten bei Diabetikern ist bis heute nicht geklärt. Kreuzinkubationen von "normalen" Thrombozyten mit Patientenplasma ergaben keinen Anhalt für einen Plasmafaktor, der für die veränderte Plättchenfunktion verantwortlich zu machen wäre (31,33). Die erhöhte Sensitivität gegenüber aggregierenden Substanzen dürfte deshalb ein Phänomen darstellen, das im Thrombozyten selbst begründet ist.

Signifikante Korrelationen ergaben sich für die TA mit dem Plasminogenspiegel und den in der Mikrozirkulation entscheidenden hämorrheologischen Größen Erythrozytenfiltrierbarkeit und Plasmaviskosität. Dies könnte indirekt einen Hinweis auf einen Zusammenhang der beeinträchtigten Thrombozytenfunktion mit Mikrozirkulationsstörungen geben.

4.1.3. Beta-Thromboglobulin

Das Thrombozyten-spezifische β -Thromboglobulin, das sich in den α -Granula der Plättchen befindet und im Rahmen der Freisetzungsreaktion aktivierter Thrombozyten ins Blut gelangt, soll die Prostacyclinbildung in der Gefäßwand hemmen (96) und die aktiven Bestandteile der α -Granula stabilisierten (149). Der Plasmaspiegel von β -TG gibt daher einen Hinweis auf eine in vivo-Thrombozytenreaktion.

Bis auf den Originalbericht aus Edinburgh (14), bei dem keine Erhöhung der β -TG-Spiegel bei Diabetikern gegenüber Kontrollpersonen gefunden wurde, besteht in der Literatur Einigkeit über die erhöhten β -TG-Werte bei Diabetikern (21,23,105,161,177,212). Besonders bei bestehender Mikroangiopathie zeigte sich eine deutliche Zunahme (102,161).

In einigen Studien wurden auch Korrelationen mit Stoffwechselfparametern beschrieben. So konnte bei sieben frisch entdeckten Diabetikern nach adäquater Therapie eine Normalisierung der β -TG-Spiegel beobachtet werden (161), während die Beziehung zwischen HbA_{1c} und β -TG einmal als signifikant (177) erkannt wurde, ein anderes Mal jedoch nicht bestätigt werden konnte (213).

Die erhöhten β -TG-Spiegel könnten auch in Zusammenhang stehen mit einem gesteigerten Thrombozytenverbrauch bei verminderter Thrombozytenlebensdauer (127,102). Fuller et al. beschrieben sogar eine verminderte Thrombozytenzahl und erklärten dies durch den gesteigerten Verbrauch (65).

Die in der Literatur vorherrschende Meinung über eine Erhöhung der β -TG-Konzentration bei Diabetikern gegenüber Gesunden konnte bestätigt werden (K: $58,3 \pm 10,0$ ng/ml; D: 106 ± 68 ng/ml).

Darüber hinaus stellten wir auch eine positive Korrelation mit den Retinopathiestadien fest, ein Befund, der die Angaben in der Literatur über eine stärkere Erhöhung der β -TG-Spiegel bei Diabetikern mit Mikroangiopathie stützt (102,161).

Weiterhin fanden wir eine negative Korrelation mit der Thrombozytenzahl, wobei die Thrombozytenzahl aber im Gegensatz zu Fuller et al. (65) im Normbereich lag. Dieser Befund könnte aber einen Hinweis auf die von Fuller et al. angedeutete Tendenz geben, daß eine Erhöhung der β -TG-Konzentration im Blut einen gesteigerten Verbrauch an Thrombozyten im Blut anzeigt, der sich in einer Senkung der Thrombozytenzahl durch diesen Vorgang, wenn auch, wie in der vorliegenden Studie, nur innerhalb des Normbereiches ausdrückt.

Wie andere (21) fanden auch wir eine extreme Schwankungsbreite der Meßwerte, deren Hauptursache sicherlich die Blutentnahme-Technik darstellt. Aufgrund der Fehleranfälligkeit und des überaus hohen Variationskoeffizienten der β -TG-Bestimmung, sowie der von manchen Autoren angegebenen, bisher nicht geklärten Altersabhängigkeit der β -TG-Normalwerte bei Gefäßgesunden (128,214) sollte eine Interpretation der Daten nur mit entsprechender Vorsicht erfolgen.

4.1.4. Prostaglandine

Die heterogene Gruppe der Prostaglandine wurde erstmals in den dreißiger Jahren von Goldblatt (70) und von Euler (57) als lipidartige Substanz in der Samenflüssigkeit beschrieben, die eine stimulierende Wirkung auf die glatte Muskulatur zeigte und den Blutdruck senkte. Von Euler prägte den Namen Prostaglandine, für deren Bildungsort er die Prostata hielt.

Chemisch handelt es sich um Derivate langkettiger, mehrfach ungesättigter Fettsäuren, die durch enzymkatalysierte Cyclisierung entstehen. Die einzelnen Prostaglandine unterscheiden sich durch die unterschiedliche Anordnung ihrer Doppelbindungen und der Hydroxy- und Ketogruppen (124).

Prostaglandine können mit Ausnahme kernloser Erythrozyten und Lymphozyten von allen tierischen Zellen gebildet werden. Der Hauptvorläufer beim Menschen ist die Arachidonsäure, die bei ungenügender oraler Zufuhr durch Verlängerung und Desaturierung aus Linolsäure entstehen kann und in die Phospholipide der Zellmembran eingebaut wird. Von dort wird sie durch das Enzym Phospholipase A₂ freigesetzt. Dabei reichen schon geringe chemische oder mechanische Stimuli aus, um das Enzym zu aktivieren. Einmal freigesetzt, wird Arachidonsäure rasch metabolisiert, entweder durch die Lipooxygenase, die nur in Plättchen, Lunge und Leukozyten vorkommt und zur Bildung von Hydroperoxy-Arachidonsäuren führt, über die bisher wenig bekannt ist, oder durch die Cyclooxygenase, die praktisch in allen Zellmembranen vorkommt (148).

Dabei wird die Biosynthese der Prostaglandine (Abb.22) zunächst durch die Sauerstoff-abhängige Bildung eines Endoperoxides eingeleitet. Davon werden dann die verschiedenen Prostaglandine sowie die Thromboxane und die Prostacycline abgeleitet (PGE₂, PGF₂α, PGD₂, TXA₂ und PGI₂). PGE₂ ist ein Vasodilatator und Bronchodilatator, während PGF₂ venokonstriktorische und broncho-konstriktorische Wirkungen besitzt

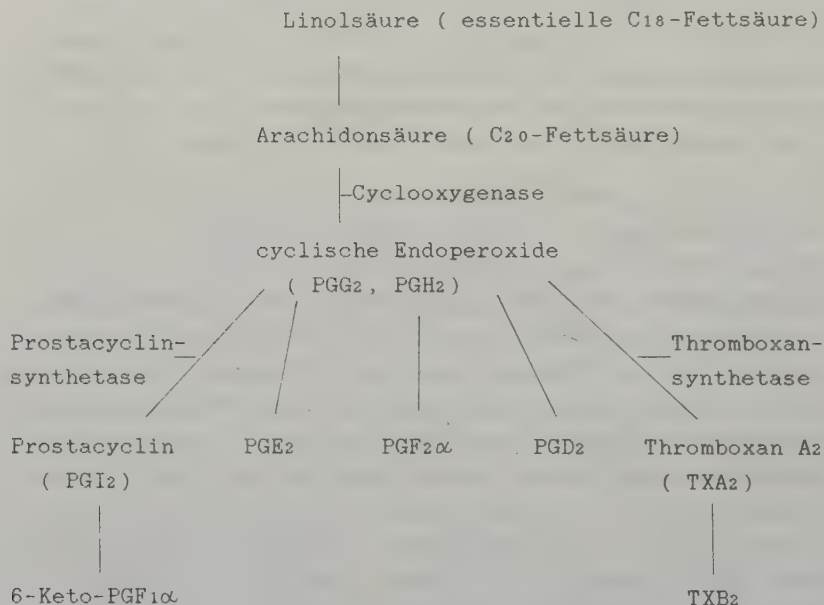


Abb.22: Arachidonsäure-Stoffwechsel und Biosynthese der Prostaglandine mit den wichtigsten Enzymen

Größten Einfluß auf die Thrombozytenfunktion üben das thrombozytäre, Aggregations-fördernde TXA₂ und das dazu antagonistisch wirkende, vom Endothel synthetisierte PGI₂ aus (75,87,148).

Die Stimulation von Thrombozyten führt zur Hydrolyse von Arachidonsäure aus den Membranphospholipiden und durch die Cyclooxygenase zur Bildung der cyclischen Endoperoxide PGG₂ und PGH₂ (84), die Substrat der Thromboxansynthetase sind (85). Das dabei gebildete TXA₂ ist bei physiologischem pH und 37° C sehr instabil (HWZ 30 sec). Als stabiler Metabolit entsteht TXB₂.

PGI₂ entsteht aus dem cyclischen Endoperoxid PGH₂ im Endothel durch die membrangebundene Prostacyclin-Synthetase (Abb.22). Auch PGI₂ ist unter physiologischen Bedingungen nicht sehr stabil (HWZ 2-3 min), als stabiles Abbauprodukt kann man 6-Keto-PGF₁α nachweisen.

Es gibt verschiedene Methoden, Prostaglandin-Spiegel im Plasma zu bestimmen. Neben Bioassays und Gaschromatographie/Massenspektrometrie wurden zahlreiche Radioimmunoassays beschrieben, die leicht zu handhaben sind und für Messungen im Picogrammbereich am geeignetesten erscheinen (60,77,139). Auffallend ist jedoch die hohe Streubreite der Normalwerte in der Literatur, bei TXB₂ von 10-40 pg/ml (142) bis zu 220-370 pg/ml (139), bei 6-Keto-PGF₁α von < 5 pg/ml (168) bis zu 70-120 pg/ml (138).

Für diese doch erheblichen Unterschiede gibt es mehrere Ursachen. So steigt der TXB₂-Spiegel mit zunehmendem Alter (97) und wird von fettreichen Mahlzeiten beeinflusst (196). Nikotin senkt den PGF₁α -Spiegel im Plasma (121), während körperliche Belastung ihn deutlich erhöht (168).

Außerdem gehen natürlich präanalytische Faktoren, wie Technik der Blutentnahme, Kanüliendurchmesser, Temperatur nach Entnahme, bei Zentrifugation und Lagerung, sowie Lokalisation der Blutentnahmestelle im Kreislaufsystem in die Bestimmung ein (147,188). Wichtig ist auch das bei der Blutgewinnung verwendete Antikoagulans und das zur Verhinderung der PG-Bildung in vitro zugegebene Pharmakon (ASS oder Indomethacin) (138).

In der Literatur besteht auch keine Einigkeit über ein Extraktionsverfahren, z.T. wurden nur geringe Wiederfindungsraten von z.B. 60% beschrieben (29).

Ein weiterer Grund für die breiten Streuungen der erzielten Meßwerte dürfte in der Kreuzreaktivität der RIAs liegen, z.B. für 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ bei dem in dieser Arbeit verwendeten Kit laut Hersteller mit PGF $_{1\alpha}$ von 2,6%, PGE $_1$ von 1,9%, TXB $_2$ von 1,4%, PGE $_2$ von 1,1% und für andere Substanzen unter 1%.

Die genannten mannigfaltigen methodischen Schwierigkeiten beim radioimmunologischen Nachweis von Prostaglandinen im Plasma machen die unterschiedlichen, z.T. widersprüchlichen Aussagen über Normalwerte in der Literatur verständlich. Solange bei der Bestimmung von Prostaglandinen keine Standardisierung in Bezug auf die genannten Größen erfolgt, bleibt ein Vergleich von Absolutwerten mit der Literatur fragwürdig. Dies sollte auch bei der Wertung der in dieser Arbeit ermittelten Meßpunkte bedacht werden.

4.1.4.1. Thromboxan B₂

In den bisherigen Publikationen über die Thromboxan-B₂-Bestimmung bei Diabetikern fanden sich sowohl erhöhte Werte (83,215), als auch gegenüber Kontrollpersonen unveränderte Blutspiegel (22). Es konnte gezeigt werden, daß Thrombozyten von Diabetikern mehr Arachidonsäure in ihren Membranphospholipiden besitzen (151) und deshalb auch mehr Thromboxan synthetisieren. Da - jedoch - zugegebene Arachidonsäure eine erhöhte TXB₂-Freisetzung bewirkte, kann die Abnormalität nicht einzig an einer erhöhten Aktivität der Phospholipase liegen (151).

Die Ergebnisse der jetzigen Studie zeigen einen gegenüber dem Kontrollkollektiv deutlich erhöhten Thromboxan-Spiegel im Plasma (K: 0,028 ± 0,006 ng/ml; D: 0,137 ± 0,134 ng/ml). Dabei müssen jedoch die oben genannten Einschränkungen berücksichtigt werden.

Die bei den Korrelationsberechnungen gefundene Beziehung zwischen der nativen VBV bei allen drei Schergeschwindigkeiten und dem TXB₂-Spiegel im Plasma könnte darauf hindeuten, daß die erhöhte Thrombozytenaggregationsneigung bei Diabetikern vielleicht auch zur Erhöhung der Vollblutviskosität führt. Da dieser Zusammenhang jedoch bei der korrigierten VBV nicht auftaucht, bleibt die Interpretation dieses Befundes, vor allem auch in Anbetracht der beschriebenen komplizierten und fehleranfälligen Meßmethodik bei der TXB₂-Bestimmung, schwierig.

4.1.4.2. 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$

In der Literatur gibt es Hinweise, daß bei Diabetikern höhere Dosen Prostacyclin erforderlich sind, um die Plättchenaggregation zu hemmen (11,102). Offensichtlich wird die thrombozytäre Adenylatcyclase bei Diabetikern durch die ADP-induzierte Aggregation besonders stark gehemmt.

Die PGI $_2$ -Produktion im Endothel bei Diabetikern fand man z.T. vermindert (107,121,178,186), andere wiederum wiesen eine erhöhte Ausscheidung von PGI $_2$ -Metaboliten im Urin nach (59). Hierbei wurde zwischen der Kapazität für die PGI $_2$ -Synthese von atherosklerotischen Gefäßen, die bei Diabetikern erniedrigt gefunden wurde, und der aktuellen endogenen PGI $_2$ -Produktionsrate, die als erhöht beschrieben wurde, unterschieden.

Die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse zeigen gegenüber Kontrollpersonen erhöhte Werte für 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ bei den untersuchten Diabetikern (K: $0,034 \pm 0,004$ ng/ml, D: $0,068 \pm 0,030$ ng/ml). Bei der sehr hohen Streubreite der Werte und der beschriebenen Schwierigkeiten bei der Vergleichbarkeit von Ergebnissen, muß jedoch die Interpretation mit Vorsicht erfolgen. So könnte der Befund einen Hinweis auf eine gesteigerte Prostacyclin-Freisetzung bei mikroangiopathischen Endothelveränderungen geben, da wie oben erwähnt, schon geringe Irritationen der Gefäßwand eine gesteigerte PGI $_2$ -Produktion bedingen (59).

Die ermittelten Korrelationen der TXB $_2$ -Konzentration mit dem 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ -Spiegel deutet ebenfalls auf eine gesteigerte Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion hin. So kann dieser Zusammenhang möglicherweise durch eine gesteigerte TXA $_2$ -Bildung der Thrombozyten bei ebenfalls, oder sogar dadurch bedingter, vermehrter PGI $_2$ -Produktion verursacht sein. Einschränkend muß darauf hingewiesen werden, daß

aufgrund der geringen Patientenzahl und der Fehleranfälligkeit bei der Bestimmung beider Parameter diese Vermutung durch weitere, mit standardisierten Verfahren durchgeführte Studien, bestätigt werden sollte.

4.2. Hämorheologische Parameter

4.2.1. Hämorheologie und Diabetes

Die retinalen mikroangiopathischen Veränderungen bei Diabetikern führten schon sehr früh zu hämorheologischen Untersuchungen (28,189); denn nicht nur beim Diabetes treten Mikroaneurysmen, Retinablutungen und Gefäßneubildungen auf, sondern man sieht sie auch bei anderen Krankheitsbildern, die mit einer gesteigerten Blutviskosität einhergehen, wie Makroglobulinämie Waldenström, Leukämien oder Sichelzellanämien. In Tierexperimenten konnten darüber hinaus solche pathologischen Retinaveränderungen durch Infusion hochmolekularer Dextrane induziert werden (140).

Ob jedoch die mikroangiopathischen Veränderungen beim Diabetes in einem ursächlichen Zusammenhang mit hämorheologischen Veränderungen stehen, kann heute noch nicht eindeutig beantwortet werden. Die rheologischen Eigenschaften des Blutes dürften vielmehr vor allem dann Bedeutung erlangen, wenn die Gefäße mikro- und makroangiopathische Veränderungen zeigen und deshalb die Erfordernisse des Stoffwechsels im Gewebe, z.B. durch Steigerung des Blutflusses bei Bedarf, nicht mehr erfüllt werden können.

4.2.2. Erythrozytenfiltrierbarkeit

In den letzten zehn Jahren beschäftigte sich eine große Anzahl von in-vitro-Studien mit den Fließeigenschaften der roten Blutkörperchen bei Diabetes mellitus. Doch Unterschiede in der Methodik, der Patientenauswahl, dem Alter, der Diabetesdauer, der Stoffwechseleinstellung und den Spätkomplikationen erschweren die Vergleichbarkeit. Die Mehrzahl der Forscher benutzte zur Messung der Flexibilität der Erythrozyten die Methode der Filtration durch Filter mit 5 μ -Poren, wobei man die pro Zeiteinheit filtrierte Menge photometrisch gegen einen Leerwert mißt und als Index der Erythrozytenflexibilität angibt (s. Methodik)

Dabei fand man eine gestörte Filtration diabetischer Erythrozyten (5,43,179). Auch bei Filtration von Vollblut oder Erythrozytensuspensionen in Plasma oder Pufferlösungen zeigte sich bei Diabetikern ein verminderter Filtrationsindex (100,108,109,110,120,155,179,195). Bei einigen Untersuchern war die Flexibilitätsminderung bei Patienten mit Mikro- und Makroangiopathie deutlicher (5,48,100,120), während andere keine Unterschiede mit oder ohne Angiopathie feststellten (179,163).

Als Fehlerquellen der Filtrationstechnik muß man vor allem an Verstopfung der Poren durch Leukozyten, Plättchenaggregate, Fibrinklumpen oder Erythrozytenaggregate denken. Manche Autoren wiesen bei einer verringerten Filtrationsrate auf erhöhte Leukozytenzahlen hin (195), nach deren Angleichung an Normalwerte sich auch die filtrierte Menge normalisierte.

Die erwähnten Ergebnisse für die Erythrozytenflexibilität beziehen sich aber nur auf die auch in dieser Arbeit verwendete Filtrationstechnik. Bei Untersuchungen mit anderen Methoden, wie Mikropipette, Viskosimetrie oder Zentrifugation, fand sich meist keine Veränderung der Beweglichkeit (118,155,184,210). Dies unterstreicht die

Bedeutung der Methodik und belegt, daß eine eindeutige Aussage über eine Rigiditätssteigerung der Erythrozyten bei Diabetikern sicher nicht möglich ist.

Über Korrelationen mit metabolischen Parametern gibt es widersprüchliche Aussagen in der Literatur. Die einen berichten über einen Zusammenhang zwischen Glukose-Spiegel und Erythrozytenflexibilität (110,115,179), während andere dies nicht nachvollziehen konnten (5,155,163). McMillan (143) weist auch auf eine Korrelation mit HbA_{1c} hin.

Als mögliche Gründe für eine verminderte EF beim Diabetiker kommen Änderungen des intrazellulären Hämoglobin, der Zellmembraneigenschaften und des Oberfläche/Volumen-Quotienten in Betracht.

Obwohl Boudart et al. (15) keine Viskositätsänderungen bei Verwendung von Lösungen mit unterschiedlichen Hämoglobinen erhielten, besteht die Möglichkeit, daß HbA_{1c} eher an die Erythrozytenmembran bindet als normales Hb und so einen nachteiligen Effekt bewirkt. Weiterhin kann die Flexibilität auch vom intrazellulären ATP-Gehalt und der Cholesterin- und Phospholipid-Zusammensetzung der Membran beeinflußt werden (54). So konnte ein verminderter erythrozytärer ATP-Gehalt bei Diabetikern nachgewiesen werden (120), der sich nach verbesserter Stoffwechseleinstellung erhöhte und eine Steigerung des Filtrations-Indexes bewirkte. Das gleiche gilt für die abnorme Cholesterin-Phospholipid-Komposition der diabetischen Erythrozytenmembran, die sich bei intensivierter Therapie normalisierte (111). Das Oberfläche/Volumen-Verhältnis der roten Blutzellen wurde von den Voruntersuchern unterschiedlich beurteilt. Einige fanden das MCV leicht vermindert (190), andere wiederum erhöht (35,150). Doch

es bleibt fraglich, ob eine so geringe Änderung dieses Quotienten in der Tat eine Verminderung der Erythrozytenflexibilität bewirken könnte.

In der vorliegenden Arbeit fanden wir keine Erhöhung der EF bei Diabetikern gegenüber Kontrollpersonen (K: $0,68 \pm 0,12$; D: $0,71 \pm 0,09$ - dimensionslos). Wie schon erwähnt stellten auch andere Untersucher bei Optimierung der diabetischen Stoffwechsellaage eine normale Filtrierbarkeit der Erythrozyten fest (111,120). So kann dieser Befund wohl auf die bei unseren Patienten vorliegende normnahe Blutzuckereinstellung zurückgeführt werden,

Die Korrelationsberechnungen ergaben bei der niedrigen Schergeschwindigkeit von $0,7 \text{ s}^{-1}$ für die auf Hk-45-korrigierte VBV einen signifikanten Zusammenhang. Nach Ernst (50) zählt die Erythrozytenflexibilität zu den die Blutviskosität bestimmenden Größen.

Im Einklang mit der zuvor erwähnten Literatur (110,115,179) fanden auch wir eine negative Korrelation zwischen Glukose-Blutspiegel und EF, während wir einen Zusammenhang mit dem HbA_{1c}-Spiegel nicht feststellen konnten. Dies mag dadurch bedingt sein, daß bei den meisten der untersuchten Patienten der HbA_{1c}-Wert im Normbereich oder knapp darüber angesiedelt war.

Wie Shiga 1980 (185) stellten wir einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Erythrozytenflexibilität und dem Cholesterin-Blutspiegel fest. Da zwischen den Lipiden im Plasma und denen der Erythrozytenmembran ein Gleichgewicht zu bestehen scheint, erklärt dies auch den Einfluß der Lipide auf die Erythrozytenflexibilität, denn die Membranelastizität ist durch ihre Lipidzusammensetzung maßgeblich bestimmt (54).

Die ebenfalls gefundene positive Korrelation zwischen α_2 -Makroglobulin und der EF läßt sich aus den bisher vorliegenden Daten kausal nicht erklären. Es bedarf sicher weiterer Studien mit größeren Patientenzahlen, um einen möglichen Zusammenhang zu eruieren oder eine dritte Größe, die vielleicht beide Parameter beeinflusst, herauszufinden. Auch eine Filterverstopfung durch die großen Proteinmoleküle kommt in Betracht.

Wie Ernst konnten auch wir keine Korrelation zwischen der EF und dem Fibrinogengehalt im Blut feststellen (51).

4.2.3. Vollblutviskosität

Die VBV wirkt sich vor allem in Gefäßen mit größerem Durchmesser als den Kapillaren aus. Sie ist deshalb von größter Bedeutung für Patienten mit diabetischer Makroangiopathie. Sie ist determiniert durch eine Reihe anderer hämorheologischer Größen, wie Schubspannung, Hämatokrit, Plasmaviskosität, Erythrozytenaggregation und Erythrozytenflexibilität; außerdem spielt auch die Temperatur eine entscheidende Rolle (50). Die VBV ist keine konstante Größe, sondern sie ist stets von Randbedingungen abhängig. Bei den niedrigen Schergeschwindigkeiten, z.B. 10 s^{-1} in den Venolen, steigt sie drastisch an, während sie im arteriellen Schenkel bei Schergeschwindigkeiten von etwa 100 s^{-1} sehr niedrig ist.

In der Literatur gibt es mehrere Angaben über Messungen der VBV. Es besteht weitgehend Übereinstimmung über eine Erhöhung bei Diabetikern, vor allem bei gleichzeitiger Mikro- oder Makroangiopathie (189,190,197). Bei den frühen Retinopathiestadien konnten Rees et al. (164) und Ditzel (42) keine Erhöhung der Scherkraft feststellen. Ditzel folgerte daraus, daß die Mikroangiopathie des Diabetikers

eine langsame Entwicklung sei, die mit dem Auftreten des Diabetes beginne, daß jedoch die Blutviskosität am ursprünglichen Prozess keinen Anteil habe. Wie Rees (164) glaubte er aber, daß die Progression einer bereits manifesten Retinopathie durch Viskositätserhöhungen gefördert würde.

Die Erhöhung der VBV war meist deutlicher, wenn der Hk auf 45% korrigiert wurde. Die Meßunterschiede waren in den niedrigen Scherbereichen größer, was darauf schließen läßt, daß Faktoren, die die Erythrozytenaggregation fördern, eine bedeutende Rolle für die Blutviskosität spielen, wie z.B. Fibrinogen und α_2 -Makroglobulin. Diese Proteine fand man oft erhöht und gut korreliert mit der Hk-45-korrigierten VBV.

Im Hinblick auf die metabolischen Parameter gibt es unterschiedliche Aussagen. Während die einen keine Korrelation mit Glukose oder HbA_{1c} entdeckten (5,94,126,159,190), fanden andere eine gesteigerte Viskosität bei erhöhten Nüchternblutzuckerwerten (98,216).

Auch zum Einfluß der Diabetesdauer auf Viskositätsveränderungen finden sich verschiedene Angaben. So berichten Isogai (99) und Stoltz (194) über erhöhte Viskositätsgrade, die andere nicht bestätigen konnten. Dabei bleibt zu bedenken, daß mit zunehmender Diabetesdauer auch das Lebensalter der Patienten steigt und deshalb eine Differenzierung der Ursachen schwierig ist, da z.B. VBV und Fibrinogen mit dem Alter ansteigen.

In der vorliegenden Arbeit fanden wir gegenüber gesunden Kontrollpersonen eine Erhöhung der nativen VBV in allen Scherbereichen, bei der Hk-45-korrigierten VBV nur im niedrigen Scherbereich, wobei zu bedenken ist, daß in diesem Bereich die Varianz der Meßwerte besonders groß ist. Die Korrektur des Hk auf 45% führte in den höheren

Scherbereichen bei Patienten mit erhöhter nativer VBV also zur Rückführung der Viskosität in den Normbereich. Es fanden sich früher schon Hinweise dafür, daß Diabetiker zu größeren Hk-Schwankungen neigen. So zeigten sich deutlichere Hk-Veränderungen nach körperlicher Betätigung als bei Nichtdiabetikern, möglicherweise bedingt durch einen Flüssigkeitsverlust des Intravasalraumes bei strukturellen oder chemischen Veränderungen der Gefäßwände (119).

Bei den Korrelationsberechnungen zeigte sich für die native VBV außer einem signifikanten Zusammenhang mit TXB_2 , der im Kapitel 4.1.3.1. diskutiert wird, eine Korrelation mit Fibrinogen bei der hohen Schergeschwindigkeit von $94,5 \text{ s}^{-1}$ (s.u.).

Die hochsignifikanten Korrelationen mit der Erythrozytenzahl lassen sich darauf zurückführen, daß die Eigenschaften und die Anzahl der roten Blutkörperchen ja definitionsgemäß die bestimmenden Größen für die VBV darstellen.

Für die auf Hk-45-korrigierte VBV ergaben sich statistisch signifikante Zusammenhänge mit den großen Eiweißmolekülen Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin und Plasminogen, vor allem in den unteren Scherbereichen (Tab.17). Dies mag bedingt sein durch die in niedrigen Scherbereichen bestehende Tendenz zur Erythrozytenaggregation, die durch verbindende Proteinmoleküle gefördert wird. Diese großen Moleküle bestimmen auch entscheidend die Plasmaviskosität und die PV ist ebenfalls eine grundlegende Größe für die VBV (55).

Außerdem fanden wir in Übereinstimmung mit Ernst und Matrai (54) eine z.T. hochsignifikante Korrelation der Hk-45-korrigierten VBV mit den Plasma-Triglycerid-Werten, während sich in unserer Arbeit mit Cholesterin kein signifikanter Zusammenhang nachweisen ließ. Dies mag daran liegen, daß

die Cholesterinwerte der untersuchten Patienten alle weit im Normbereich lagen (Normalwert: $< 220 \text{ mg/dl}$; D: $149 \pm 31 \text{ mg/dl}$), während die Triglyceridwerte im oberen Normbereich oder darüber angesiedelt waren (Normalwert: $50-150 \text{ mg/dl}$; D: $157 \pm 45 \text{ mg/dl}$).

Da, wie im vorhergehenden Kapitel beschrieben, die Plasma-lipidkonzentration Einfluß auf die Membranzusammensetzung und damit -viskoelastizität der Erythrozyten nimmt, können diese Größen über eine verminderte Erythrozytenflexibilität die VBV beeinflussen.

4.2.4. Erythrozytenaggregation

Bereits viele Forscher untersuchten die EA bei diabetischen Patienten und es besteht Übereinstimmung darüber, daß sie erhöht ist (41,82). Man konnte feststellen, daß die Aggregation durch einen Überzug der Erythrozyten mit Proteinen bedingt ist und mit erhöhten Plasma-Fibrinogen- und -Globulin-Spiegeln, besonders α_2 -Globulin und β -Globulin, korreliert.

Zunächst fand man keine Unterschiede bei Patienten mit und ohne Retinopathie (82,179) sowie keine Beeinflussung metabolischer Parameter. Spätere Untersuchungen ergaben allerdings eine Korrelation der Aggregation mit der Schwere der Retinopathie (123,176) und auch eine Beziehung zum HbA_{1c}-Spiegel (176) und zum Blutzucker (40).

Die pathophysiologische Bedeutung der EA-Erhöhung könnte in der Blutviskositätssteigerung bei niedrigen Scher-geschwindigkeiten liegen, wie sie in den postkapillären Venolen vorliegen. Es bleibt aber auch möglich, daß über einen längeren Zeitraum bei geschädigten kleinen Gefäßen die erhöhte EA an der Ätiologie von Gefäßverschlüssen beteiligt ist.

In Übereinstimmung mit der oben genannten Literatur fanden wir in der jetzigen Studie die Werte für die EA gegenüber Kontrollpersonen erhöht (K: $11,8 \pm 3,0$; D: $14,1 \pm 3,4$ - dimensionslos).

Korrelationen der EA mit den Eiweißen Fibrinogen und Plasminogen konnten wir bestätigen. Diese Proteine führen durch Adhäsion an die roten Blutzellen zur verstärkten Aggregation, zum anderen sind sie damit auch maßgeblich an der Beeinflussung der VBV beteiligt (Tab.18). Dies erklärt auch die Korrelationen mit der nativen VBV und im niedrigen Scherbereich mit der Hk-45-korrigierten VBV, die z.T. hochsignifikant ausfielen.

4.2.5. Plasmaviskosität

Plasma, das Suspensionsmedium für die Erythrozyten, ist näherungsweise eine Newton'sche Flüssigkeit. Seine Viskosität wird überwiegend bestimmt durch die Makroprotein-Moleküle, die in ihm gelöst sind, in erster Linie Fibrinogen, aber auch IgM und andere (50).

Die Plasmaviskosität liefert nicht nur einen bedeutenden Beitrag zur Vollblutviskosität, sondern beeinflusst auch ganz entscheidend zusammen mit der Erythrozytenflexibilität den Blutfluß in der Mikrozirkulation.

Bei Diabetikern fand man bisher teils erhöhte Werte (98,126,155,159,194), teils konnten keine Unterschiede zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern berichtet werden (39,42,119,189,190).

In der vorliegenden Studie fanden wir die Plasmaviskosität gegenüber Kontrollpersonen signifikant erhöht (K: $1,18 \pm 0,05$ mPas; D: $1,26 \pm 0,07$ mPas). Bei den Korrelationsberechnungen (Tab.19) ergab sich ein deutlicher Zusammenhang mit der TA (s.4.1.2.). Erwartungsgemäß fanden auch wir einen hochsignifikanten Zusammenhang mit dem Fibrinogenspiegel und einen weiteren mit Plasminogen. Az-Makroglobulin konnte bei unseren Berechnungen das Signifikanzniveau nicht erreichen.

Ein weiterer hochsignifikanter Zusammenhang zeigte sich mit der Diabetesdauer. Dies könnte darauf hindeuten, daß mit zunehmender Dauer der Krankheit auch die Fibrinogenkonzentration zunimmt. Dieser Schluß läßt sich aber aus unseren Ergebnissen nicht ziehen, denn in den Korrelationsberechnungen ergab sich kein Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen der Diabetesdauer und dem Fibrinogen-Spiegel.

4.3. Einflüsse plasmatischer Faktoren

Durch den absoluten Insulinmangel kommt es beim Diabetiker zu katabolen Stoffwechselvorgängen im Fettgewebe. Die Lipogenese ist vermindert, die Lipolyse vermehrt. Daraus ergibt sich ein erhöhter Blutspiegel an freien Fettsäuren und Triglyceriden. Hohe Serumlipidkonzentrationen sind aber bekannt als Risikofaktor für die Entstehung atherosklerotischer Veränderungen.

Bei unserem Patientengut handelte es sich nun um optimal eingestellte Typ I-Diabetiker mit intensivierter Insulintherapie. Doch auch bei dieser Gruppe konnten wir eine deutliche Erhöhung der Triglyceridwerte im Plasma feststellen (Normbereich 50-150 mg/dl; D: 157 ± 45 mg/dl), während der Cholesterinspiegel mit 149 ± 31 mg/dl (Normbereich < 220 mg/dl) niedrig war.

Signifikante Korrelationen ergaben sich nur für die hämorheologischen Parameter Erythrozytenfiltrierbarkeit bei Cholesterin und die Hk-45-korrigierte VBV bei den Triglyceriden. Einen signifikanten Zusammenhang mit der Diabetesdauer oder den Retinopathiestadien sowie mit den antithrombotischen Parametern konnten wir nicht feststellen. Daraus kann man schließen, daß eine normnahe Blutzuckereinstellung zwar nicht eine gewisse Verschlechterung der Hämorheologie durch Einfluß der Blutfette verhindern kann, daß aber eine direkte Beziehung zwischen der Entstehung der Angiopathie beim Diabetiker und den Serumlipidkonzentrationen nicht nachvollziehbar ist.

Die Blutzuckereinstellung war bei unseren Patienten voraussetzungsgemäß fast normal, die HbA_{1c}-Spiegel lagen bei $7,09 \pm 0,83\%$ (Normbereich: $3,43 - 6,11\%$). Die durchschnittlichen Glukosewerte von 184 ± 50 mg/dl sind dadurch bedingt, daß die Patienten nicht nüchtern waren und dies praktisch den postprandialen Wert am frühen Vormittag darstellt. Eine Beeinflussung von hämorheologischen und antithrombotischen Parametern zeigte sich nur mit der Erythrozytenfiltrierbarkeit (s.4.2.1.). Daraus kann man schließen, daß der direkt meßbare aktuelle Stoffwechselzustand beim Diabetiker oder auch eine Kontrolle der letzten drei Monate nicht die entscheidende Bedeutung im Hinblick auf eine Entstehung der angiopathischen Spätkomplikationen hat, sondern daß andere Einflüsse, wie eine gestörte Thrombozytenfunktion oder eine Alteration der Gefäßwand, wichtigere Faktoren darstellen.

Bei der gestörten Thrombozytenfunktion des Diabetikers mit seiner gesteigerten Thrombozytenaggregationsneigung und der verkürzten Plättchenüberlebenszeit (102), wie sie auch durch den erhöhten β -TG-Spiegel angedeutet wird, stellt sich auch die Frage nach der Funktionsfähigkeit der Gerinnungskaskade und des fibrinolytischen Systems. Der entscheidende Schritt der Gerinnung ist die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin. Alle Faktoren, die diesen Vorgang positiv beeinflussen, können somit zu Hyperkoagulabilität und damit zur Förderung der Thrombose führen.

Nun ist bei Diabetikern häufig ein erhöhter Fibrinogenspiegel beschrieben worden (3,31,141,166), für Antithrombin III fanden sich unterschiedliche Werte (63,66,69,102,191). Bei unseren Messungen zeigte sich ein deutliches Übergewicht der Faktoren, die eine Gerinnung fördern, während die Fibrinolyse-steigernden Parameter eher niedrige Spiegel aufwiesen. So fanden wir für Fibrinogen als Substrat des Thrombins mit 482 ± 90 mg/dl deutlich über der Norm (205-439 mg/dl) liegende Werte, während Antithrombin III, als Thrombininhibitor ein Gegenspieler der Gerinnung, mit $83,4 \pm 16,1\%$ d.Norm im unteren Normbereich (80-120% d.Norm) lag. Ähnliche Verhältnisse zeigten sich beim fibrinolytischen System. Hier war das Proenzym Plasminogen mit $78,1 \pm 11,2\%$ d.Norm bei einem Normbereich von 75-140% d.Norm im unteren Bereich oder darunter angesiedelt, α_2 -Makroglobulin, ein potenter Plasmininhibitor, lag dagegen mit 370 ± 99 mg/dl (Normbereich 150-420 mg/dl) im oberen Normbereich.

Daraus kann man schließen, daß sich bei Diabetikern das Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Fibrinolyse möglicherweise zugunsten der Gerinnung verschiebt und damit ein zusätzlicher atherogener Faktor wirksam wird. Aufgrund der niedrigen Patientenzahl sind jedoch sicher größere Studien notwendig, um diese Frage zu klären.

Dieses beschriebene Ungleichgewicht zwischen Gerinnung und Fibrinolyse könnte auch die signifikante Korrelation zwischen Antithrombin III und Plasminogen bewirken, für die sonst kein kausaler Zusammenhang wahrscheinlich erscheint.

Eine Beeinflussung der rheologischen Verhältnisse ließ sich in der jetzigen Arbeit für Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin und Plasminogen nachweisen. Während α_2 -Makroglobulin, eines der größten Plasmaproteine mit einem MG von 820 000, im Gegensatz zu Voruntersuchungen (50) keine positive Korrelation mit der Plasmaviskosität zeigte, ergab sich für Fibrinogen erwartungsgemäß ein hochsignifikanter Zusammenhang; aber auch Plasminogen mit einem MG von 143 000 wies eine signifikante Korrelation auf (Tab.19). Alle drei Proteine beeinflussten die native oder Hk-45-korrigierte VBV in unterschiedlichen Scherbereichen (Tab.16,17). Weiterhin korrelierten α_2 -Makroglobulin mit der EF (Tab.15) und Fibrinogen und Plasminogen hochsignifikant mit der EA (Tab.18).

Diese drei relativ großen Plasmaproteine führen also zu einer Viskositätssteigerung des Blutes, die bei angiopathischen Veränderungen, wie sie beim Diabetiker auftreten, für die Makro- und Mikrozirkulation entscheidende Bedeutung erlangen. Es stellt sich die Frage, inwieweit therapeutische Möglichkeiten, die vor allem auf eine Senkung des Fibrinogenspiegels, z.B. mit Pentoxifyllin, zielen, wirksam sind.

4.4. Ergebnisse der medikamentösen Therapie

Da die Thrombozyten eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Gefäßkrankheiten spielen, besteht natürlich großes klinisches Interesse an Pharmaka, die die Thrombozytenfunktion beeinflussen, besonders die Hyperaggregabilität der Thrombozyten bei Diabetikern herabsetzen.

4.4.1. Acetylsalicylsäure

ASS zeigte schon in früheren Studien bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder cerebrovasculärer Insuffizienz eine positive Beeinflussung des Krankheitsgeschehens durch Verminderung der Reinfarktrate (17,49) bzw. Reduktion der Inzidenz von cerebralen Insulten und Todesfällen bei Patienten mit transienten ischämischen Attacken (4,24), vor allem bei Männern.

ASS, bekannt als Analgetikum und Antirheumatikum, inhibiert die Prostaglandinsynthese durch irreversible Acetylierung der Cyclooxygenase, des Enzyms im Arachidonsäure-Stoffwechsel, das die Bildung von Endoperoxiden und Thromboxan A₂, des stärksten Thrombozytenaggregators, im Plättchen katalysiert (172,201). Weiterhin hemmt ASS die Thrombozytenstimulation, sichtbar am fehlenden Formwandel (114), während die Adhäsion der Plättchen nicht beeinflusst wird (9,204,205,206). Eine gesteigerte spontane Plättchenaggregation kehrt zur Norm zurück (205).

Da die kernlosen Thrombozyten im Gegensatz zur kernhaltigen Endothelzelle die Cyclooxygenase nicht resynthetisieren können, bleiben sie für ihre gesamte Lebensdauer gestört.

Diese Plättchen können allerdings noch auf Endoperoxide und Thromboxane, die von anderen Plättchen sezerniert werden, reagieren, wobei schätzungsweise zehn Prozent intakte Plättchen ausreichen, um insgesamt eine normale Funktion aufrechtzuerhalten (25,153).

Hohe Dosen ASS verlängern die Prothrombinzeit nach 2-3 Tagen (30) durch Senkung der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X (125). Der Mechanismus ist unbekannt, aber der Defekt kann durch Vitamin K korrigiert werden (71). ASS allein wird eine verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit nicht normalisieren, hat aber einen potenzierenden Effekt auf andere plättchenhemmende Substanzen (86,167).

Große Unsicherheit besteht bezüglich der optimalen Dosierung von ASS, da offenbar aufgrund der Prostaglandinsynthese-Hemmung der antithrombotische Effekt bei zu hoher Dosierung aufgehoben wird (134,146,156,162).

In der vorliegenden Arbeit therapierten wir die teilnehmenden Patienten für etwa vier Wochen mit 2 x 300 mg/die ASS, also einer mittleren Dosierung. Erwartungsgemäß verringerte sich die Thrombozytenaggregationsneigung unter Therapie mit ASS. Dabei stieg der 50%-Aggregationswert der Induktorsubstanz bei Induktion mit ADP um $111,2\% \pm 73,7\%$ (Tab.6), bei Induktion der Aggregation mit Kollagen um $227,8\% \pm 205,2\%$ (Tab.8). Die jeweils hohe Schwankungsbreite der Meßwerte dürfte auch hier durch den relativ hohen Variationskoeffizienten der TA-Messung bedingt sein.

Weiterhin zeigt sich unter ASS-Therapie eine Senkung des TXB₂-Gehaltes im Plasma, des stabilen Abbauproduktes von TXA₂. Wie schon zuvor ausführlich diskutiert, beruht der Wirkungsmechanismus von ASS auf einer Hemmung der Cyclooxygenase, die die Vorstufe der TXA₂-Bildung katalysiert (148). Wenn nach vierwöchiger konsequenter ASS-Therapie die eingangs gegenüber Kontrollpersonen erhöhten TXB₂-Konzentrationen signifikant gesenkt werden konnten (Tab.11), so entspricht dies dem Nachweis der verminderten Bildung von TXA₂ und damit auch einer verminderten aggregatorischen Potenz der Plättchen, die sich in der vorher beschriebenen Senkung der TA zeigte.

Auch eine statistisch signifikante Verlängerung der PTT konnten wir bei den Patienten unter ASS-Therapie feststellen. Während Coldwell und Zawadzka 1968 (30) Dosen von 1-2 g ASS täglich für eine Verlängerung der Thrombinzeit angaben, zeigten unsere Patienten bereits bei einer täglichen Dosierung mit 600 mg ASS einen deutlichen Effekt (Tab.13). Loew und Vinazzer 1976 (125) führten diesen Effekt auf eine Verminderung der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X zurück, der Mechanismus dieses durch Vitamin K korrigierbaren (71) Gerinnungsfaktorenmangels unter ASS-Therapie blieb aber bis jetzt unklar.

In der jetzigen Studie fanden wir keine Beeinflussung der hämorheologischen Parameter durch ASS und konnten somit die Vorbefunde von Ernst 1984 (53), der ASS als ideale Referenzsubstanz für klinisch-hämorheologische Untersuchungen vorschlägt, und Stäubli 1982 (192) bestätigen.

4.4.2. Pentoxifyllin

Pentoxifyllin ist ohne Zweifel dasjenige Pharmakon, das von allen "Rheologika" am gründlichsten untersucht ist. Für Pentoxifyllin sind unter anderem vasoaktive Thrombozytenfunktions-hemmende (209), Prostacyclin-synthese-stimulierende (207) und Fibrinolyse-fördernde Eigenschaften beschrieben.

Anfang der siebziger Jahre entdeckte man eine durch Pentoxifyllin induzierte Senkung der Blutviskosität (93), die einerseits auf einer Verminderung des Fibrinogenspiegels, andererseits auf einer Normalisierung von erythrozytären Eigenschaften beruht (52). So läßt sich in vitro bei gelagerten (122) und pathologisch rigiden (46) Erythrozyten durch Pentoxifyllin eine Flexibilitätssteigerung erzielen. Aber auch in vivo bei Patienten mit AVK und Diabetikern (137,180) kann man diese Medikamentenbedingte Verbesserung nachweisen.

Der Wirkmechanismus beruht zunächst darauf, daß der intraerythrozytäre ATP-Spiegel mittels Pentoxifyllin angehoben wird, was einen unmittelbaren Einfluß auf die Flexibilität zu haben scheint, denn ATP-arme Erythrozyten sind pathologisch rigide (19). Andererseits wirkt das Medikament wahrscheinlich über Eingriffe auf die Elektrolytbalance membranstabilisierend (80).

Daneben konnte man im Tierversuch eine Reduktion der Aggregationsneigung der Erythrozyten nachweisen (26,182), die wohl mit der Senkung des Fibrinogenspiegels in Zusammenhang stehen dürfte.

Darüber hinaus kommt es in der poststenotischen Strombahn zur Perfusionssteigerung und Blutumverteilung mit Normalisierung des Sauerstoffaustausches in der gestörten Mikrozirkulation (6,52).

Die Hauptindikation des Pharmakons ist heute die arterielle Verschußkrankheit, wo deutliche Erfolge anhand von kontrollierten Doppelblindstudien nachgewiesen werden konnten (7,12,20,58,90,112,180,200,202), bei den unterschiedlichsten Untersuchungskriterien, wie Gehstreckenverlängerung, Ratschow-Test, Wundheilungstendenz, Venenverschuß-Plethysmographie, Doppler-Ultraschall, Ergometrie, Rheographie und Oszillographie, ebenso subjektiven Symptomen wie Parästhesie und Ruheschmerz.

Doch daneben gibt es eine Reihe von Krankheitsbildern, bei denen durch Normalisierung hämorheologischer Parameter eine verbesserte Gewebepfusion erzielt werden kann, darunter auch der Diabetes mellitus mit seinen mikro- und makroangiopathischen Veränderungen (37,38).

In der vorliegenden Arbeit konnten wir im Einklang mit den Voruntersuchern (47,131,181) einen Anstieg der Erythrozytenfiltration unter Pentoxifyllin feststellen. Neuere Berichte deuten jedoch an, daß die Filtrationstechnik zur Ermittlung der Erythrozytenflexibilität nicht nur den Grad der Verformbarkeit der roten Blutkörperchen wiedergibt, sondern daß auch andere Komponenten, wie Plasmaviskosität oder andere Blutbestandteile, am Filtrationsergebnis beteiligt sind (2,116,135,144,211). So bewirkt Pentoxifyllin auch eine Abnahme der Adhäsionstendenz der Leukozyten (136), so daß eine verbesserte Filtrationsrate nach Therapie mit Pentoxifyllin vielleicht sogar eher auf eine rheologische Veränderung der weißen als der roten Blutkörperchen zurückzuführen ist.

Weiterhin stellten wir eine Erniedrigung der Plasmaviskosität und des Fibrinogengehaltes im Plasma durch Pentoxifyllin fest. Wir befinden uns damit im Einklang mit einigen Voruntersuchern (18,106,157,175,198), während andere nur tendenzielle oder keine Effekte durch Pentoxifyllin nachweisen konnten (56,79). Da die Plasmaviskosität im wesentlichen eine Funktion der gelösten Proteine darstellt, kann sie durch einen gesenkten Fibrinogenspiegel ebenfalls vermindert werden.

Die von Chmiel 1981 (26) und Seiffge 1980 (182) festgestellte Verminderung der Erythrozytenaggregation konnten wir in der jetzigen Untersuchung nicht nachweisen. Gründe dafür könnte die geringe Anzahl der untersuchten Patienten oder eine mangelnde Compliance der nur ambulant betreuten Diabetiker sein. So ließen sich auch die Ergebnisse für die verbesserte Erythrozytenflexibilität, Plasmaviskosität und den gesenkten Fibrinogenspiegel nur in der ersten Behandlungsphase nachweisen.

Sodann konnten wir wie Wenzel 1975 (209) eine Hemmung der Thrombozytenaggregation unter Pentoxifyllin (Tab.6-9) feststellen, sowohl bei der ADP-induzierten als auch bei der Kollagen-induzierten TA. Pentoxifyllin stimuliert die Prostacyclinsynthese und Freisetzung (207) und inhibiert die cAMP-Phosphodiesterase der Plättchenmembran (62,193). So erhöht es den intracellulären cAMP-Gehalt und reduziert damit die Bildung von TXA₂, der stärksten aggregationsfördernden Substanz (74).

Unsere Ergebnisse stimmen mit früheren Untersuchungen über die Wirkungen von Pentoxifyllin überein (72,122,130). Außer der Senkung der TA fand man damals auch eine Reduktion der Bildung von Pseudopodien und der Freisetzung von Plättchenfaktor 3. Dies mag darauf hindeuten, daß Pentoxifyllin eine pathologische Irritabilität und Hyperaggregabilität positiv beeinflusst.

4.5. Abschließende Betrachtung der Ergebnisse

Der Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion wird heute eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der Atherosklerose und diabetischen Mikroangiopathie zugeschrieben (33,68). Nach heutiger Ansicht steht am Beginn dieses Prozesses eine Verletzung oder Dysfunktion des Gefäßendothels, die die Adhäsion von Thrombozyten an die Gefäßwand induziert, während ein funktionstüchtiges Endothel dagegen resistent zu sein scheint (10). Beim Diabetiker treten nun gehäuft Faktoren auf, die potentiell eine Schädigung des Gefäßendothels auslösen können, wie Hypertonie, Hyperlipidämie, Hyperglycämie, Immunkomplexe oder Bakterien (33,68,103, 104). Als Hinweise auf eine Gefäßwandschädigung konnten bei Diabetikern eine erhöhte Permeabilität für Eiweißmoleküle und deren Ablagerung in der Gefäßwand ("plasmatische Vasculose") (101), erhöhte Spiegel an von Willebrand-Faktor (102,129), verminderter Plasminogen-Aktivator und reduzierte Lipoproteinlipase-Aktivität (33) beschrieben werden.

Als Folge der erhöhten Aggregabilität der Thrombozyten ist beim Diabetiker mit verstärkter Mikrothrombenbildung zu rechnen, wie sie im Tierversuch wenige Wochen nach Diabetesbeginn beobachtet wurde (169). Auf einen erhöhten Thrombozytenabbau weisen die erhöhten β -TG-Spiegel bei Diabetikern hin, die auch in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden konnten. Für eine gesteigerte Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion sprechen auch die erhöhten TXB₂- und 6-Keto-PGF₁ α -Spiegel, wobei auf die hohe Fehleranfälligkeit der Prostaglandinbestimmungen hingewiesen werden muß.

Die erhöhte Aggregabilität und die nachgewiesene verminderte Prostacyclinempfindlichkeit während der Aggregation (102) könnten eine wichtige Rolle bei der Entstehung der diabetischen Angiopathie spielen. Eine Verhinderung oder Verzögerung der Mikro- bzw. Makroangiopathie dürfte wohl vor allem durch die Beseitigung der Faktoren möglich sein, die eine Endothelschädigung bewirken.

Neben einer optimalen Stoffwechselkontrolle wurden therapeutische Versuche unternommen, die gestörte Mikrozirkulation beim angiopathischen Patienten zu verbessern. So bietet es sich an, bei dem nachgewiesenen hohen Fibrinogenspiegel der Diabetiker, eine Fibrinogen-senkende Substanz, wie Pentoxifyllin, einzusetzen, denn Fibrinogen beeinflußt nicht nur entscheidend die Plasmaviskosität und die Erythrozytenflexibilität, sondern auch die Erythrozytenaggregation und damit die Vollblutviskosität, wenn auch letzterer Effekt in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden konnte, vielleicht aufgrund der geringen Fallzahl. Zudem wirkt Pentoxifyllin durch Inhibierung der Phosphodiesterase der Plättchenmembran steigernd auf den intrazellulären cAMP-Gehalt und behindert damit über die verminderte TXA₂-Bildung die Thrombozytenaggregabilität. Dies könnte sich bei der gestörten Thrombozytenfunktion des Diabetikers positiv auswirken.

Auch ASS wirkt über die Cyclooxygenasehemmung inhibierend auf die Prostaglandinsynthese und vermindert eine gesteigerte Thrombozytenaggregation beim Diabetiker. Die zahlreichen Nebenwirkungen sowie die durch ASS induzierte Blutungsneigung, die sich bei proliferativer Retinopathie fatal auswirken würde, schränken jedoch den Anwendungsbereich ein und verlangen eine strenge Abwägung von Nutzen und Risiko für den Patienten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In den letzten Jahren fanden sich zunehmend Hinweise, daß die Funktion der Thrombozyten und die Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der Mikro- und Makroangiopathie des Diabetikers spielen. Weiterhin zeigten sich hämorheologische Veränderungen bei diesen Patienten, deren pathogenetischer Einfluß bislang ungeklärt ist, die aber einen therapeutischen Zugang zur Besserung der Mikrozirkulation eröffnen.

Die meisten der bisherigen Untersuchungen fanden unabhängig vom bestehenden Stoffwechselzustand der untersuchten Patienten statt. Mit der vorliegenden Arbeit sollten die hämorheologischen und thrombozytären Verhältnisse bei Typ I-Diabetikern mit optimalen Stoffwechselbedingungen untersucht werden. Durch die Gabe hämorheologisch wirksamer bzw. die Thrombozytenfunktion beeinflussender Medikamente sollte die therapeutische Interventionsmöglichkeit geprüft werden.

An 18 Diabetikern und 13 Kontrollpersonen wurden Untersuchungen zur ADP-induzierten TA durchgeführt. Dabei fanden sich die Werte für Diabetiker deutlich erhöht. Signifikante Korrelationen ergaben sich mit dem Plasminogenspiegel und den in der Mikrozirkulation entscheidenden hämorheologischen Größen Erythrozyten-filtrierbarkeit und Plasmaviskosität, was indirekt auf einen Zusammenhang der beeinträchtigten Thrombozytenfunktion mit Mikrozirkulationsstörungen hinweisen könnte.

Ein gesteigerter Thrombozytenabbau läßt sich aus einer deutlichen Erhöhung der Werte für β -TG ableiten. Die negative Korrelation mit der Thrombozytenzahl könnte die Tendenz andeuten, daß der gesteigerte Thrombozytenabbau mit einer Erniedrigung der Thrombozytenzahl einhergeht, die allerdings in dieser Arbeit nicht vorgefunden wurde. Eine deutliche Korrelation ergab sich auch mit den Retinopathiestadien. Sie kann auf eine Verkürzung der Thrombozytenüberlebenszeit bei Mikroangiopathie hinweisen.

Auf eine gesteigerte Thrombozytenreaktion weisen die erhöhten TXB₂-Spiegel hin. Die bei den Korrelationsberechnungen gefundene Beziehung zwischen der nativen VBV bei allen drei Schergeschwindigkeiten und dem TXB₂-Spiegel könnte ein Hinweis darauf sein, daß die erhöhte Thrombozytenaggregationsneigung bei Diabetikern vielleicht auch zu einer Erhöhung der Vollblutviskosität führt.

Als möglicher Ausdruck einer gesteigerten Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion bei Diabetikern wurden für 6-Keto-PGF₁ α erhöhte Werte gefunden. Zu dieser Interpretation paßt auch eine Korrelation mit dem TXB₂-Spiegel, die eine gesteigerte Thrombozytenreaktion bei gleichzeitiger vermehrter PGI₂-Freisetzung aus dem Gefäßendothel nahelegt.

Bei allen Prostaglandinbestimmungen muß jedoch die Beeinflussung durch Probanden-abhängige und Probanden-unabhängige, präanalytische Faktoren bedacht werden. Die hohe Streubreite der in der bisherigen Literatur erscheinenden Daten und die auch in unserem Patientenkollektiv auftretende, z.T. erhebliche Varianz sowohl bei der TXB₂- als auch bei der 6-Keto-PGF₁ α -Bestimmung erfordern besondere Zurückhaltung bei der Interpretation dieser Meßwerte.

Die rheologischen Faktoren, die in dieser Arbeit untersucht wurden, dürften vor allem dann Bedeutung erlangen, wenn die Gefäße des Diabetikers mikro- und makroangiopathisch verändert sind und deshalb die Erfordernisse des Stoffwechsels im Gewebe nicht mehr erfüllen können.

Die Erythrozytenfiltrierbarkeit als ein Maß für die Erythrozytenflexibilität fanden wir nicht gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöht. Signifikante Korrelationen zeigten sich mit der Hk-45-korrigierten VBV bei der niedrigen Schergeschwindigkeit; die Erythrozytenflexibilität stellt jedoch eine Determinante der VBV dar. Weitere statistische Zusammenhänge ergaben sich mit dem Cholesterinblutspiegel, der die Membranzusammensetzung und damit -viskoelastizität verändern kann. Eine negative Korrelation zeigte sich mit dem Glucosespiegel, der eine vermehrte Rigidität bei schlechter Stoffwechseleinstellung vermuten läßt. Die gefundene Korrelation mit dem α_2 -Makroglobulin-Spiegel läßt sich kausal zunächst nicht erklären. Als Ursache kommen eine Filterverstopfung durch die großen Moleküle oder eine Beeinflussung über eine dritte Größe, wie z.B. die Erythrozytenaggregation, in Betracht.

Die VBV bestimmten wir in drei unterschiedlichen Scherbereichen sowohl nativ als auch auf einen Hk von 45% korrigiert. Die native VBV war bei allen Schergeschwindigkeiten deutlich erhöht, die Hk-45-korrigierte VBV nur bei $0,7 \text{ s}^{-1}$. Die VBV ist eine komplexe Größe, die von vielen anderen Parametern beeinflußt wird. So fanden wir Korrelationen mit Fibrinogen, α_2 -Makroglobulin, Plasminogen, Plasmaviskosität, Erythrozytenaggregation, Erythrozytenfiltrierbarkeit, Erythrozytenzahl, Triglyceridwerten und TXB₂.

Die Erythrozytenaggregation fanden wir gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöht. Die Korrelationen der EA mit Fibrinogen und Plasminogen sind durch intererythrozytäre Brückenbildungen durch die Eiweißmoleküle zu erklären. Weiterhin beeinflusste die EA als Determinante erwartungsgemäß signifikant die VBV, vor allem im niedrigen Scherbereich.

Die Plasmaviskosität, die zusammen mit der Erythrozytenflexibilität die Mikrozirkulation entscheidend beeinflusst, fanden wir bei den Diabetikern signifikant erhöht. Korrelationen ergaben sich mit den großen Eiweißmolekülen Fibrinogen und Plasminogen, außerdem mit der Thrombozytenaggregation, was einen Zusammenhang der gestörten Thrombozytenfunktion mit einer beeinträchtigten Mikrozirkulation nahelegt. Zudem zeigte sich eine Viskositätszunahme mit der Diabetesdauer.

Die Untersuchung plasmatischer Faktoren ergab ein Übergewicht der Gerinnungs-fördernden gegenüber den Fibrinolyse-steigernden Parametern. Fibrinogen war stark erhöht, Antithrombin III nur im unteren Normbereich, während α_2 -Makroglobulin, ein potenter Plasmininhibitor, leicht erhöht war. Damit könnte eine Hyperkoagulabilität und ein zusätzlicher thrombogener Faktor angedeutet werden. Für die Korrelation von Plasminogen und Antithrombin III konnten wir keinen kausalen Zusammenhang eruieren. Es bedarf sicher größerer Studien, um die Frage einer direkten oder indirekten Beeinflussung zu beantworten.

Die therapeutische Interventionsmöglichkeit prüften wir an den bekannten Substanzen Acetylsalicylsäure und Pentoxifyllin.

Die Therapie mit 2 x 300 mg/die ASS führte über seinen bekannten Mechanismus der Cyclooxygenasehemmung zur drastischen Senkung der Thrombozytenaggregabilität und zur Senkung des TXB₂-Gehaltes. Außerdem zeigte sich wie schon in früheren Studien eine Verlängerung der PTT.

Unter Therapie mit 2 x 600 mg/die Pentoxifyllin zeigte sich neben geringeren Beeinflussungen der Thrombozytenfunktion als bei ASS vor allem ein signifikanter Abfall der Plasmaviskosität, wohl bedingt durch die ebenso signifikante Verminderung des Fibrinogengehaltes, sowie eine Zunahme der Erythrozytenfiltrierbarkeit.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die positiven Effekte auf die rheologischen Eigenschaften durch Pentoxifyllin, wie sie in der vorliegenden Studie nachgewiesen wurden, über die Verbesserung der Mikrozirkulation durch rheologische Mechanismen von großer klinischer Bedeutung bei den Gefäßveränderungen des Diabetikers sein können. Eine low-dose-Therapie mit ASS ist im Hinblick auf die deutliche Verminderung der pathologischen Thrombozytenaggregabilität des Diabetikers sicher immer überlegenswert, bedarf aber in Anbetracht der zahlreichen Nebenwirkungen des Medikamentes und der nachgewiesenen Blutungsneigung stets einer strengen Abwägung zwischen Nutzen und Risiko für den Patienten. Die Frage nach der Möglichkeit einer Verhinderung oder Verzögerung von Spätkomplikationen beim Diabetes mellitus muß in weiteren prospektiven klinischen Studien abgeklärt werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Aiken, J.W., Gorman, R.R., Shebuski, R.J.: Prevention of blockage of partially obstructed coronary arteries with prostacyclin correlates with inhibition of platelet aggregation. Prostaglandins 17 (1979) 483
2. Alderman, M.J., Ridge, A., Morley, A.A., Ryall, R.G., Walsh, J.A.: Effect of total leucocyte count on whole blood filterability in patients with peripheral vascular disease. J.Clin.Path. 34 (1982) 163
3. Almér, L.-O., Pandolfi, M., Nilsson, I.M.: Diabetic retinopathy and the fibrinolytic system. Diabetes 24 (1975) 529
4. Aspirin Myocardial Infarction Study Research Group (AMIS Research Group): A randomized controlled trial of aspirin in persons recovered from myocardial infarction. J.Amer.Med.Ass. 243 (1980) 661
5. Barnes, A.J., Locke, P., Scudder, P.R., Dormandy, T.L., Dormandy, J.A., Slack, J.: Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculatory disease? Lancet 2 (1977) 789
6. Baumann, J.C.: Selektive Einflußnahme durch Pentoxifyllin auf die poststenotische Durchblutung bei arterieller Verschußkrankheit. Therapiewoche 25 (1975) 1471
7. Baumann, J.C.: Erweiterte Möglichkeiten zur konservativen Behandlung arterieller Durchblutungsstörungen. Therapiewoche 27 (1977) 5672 (English)

8. Baumgartner, H.R.: Arteriosklerose und Thrombose, neue pathogenetische Gesichtspunkte. Internist 19 (1978) 627
9. Baumgartner, H.R., Tschopp, T.B.: Platelet interaction with aortic subendothelium in vitro: Locally produced PGI₂ inhibits adhesion and formation of mural thrombi in flowing blood. Thromb.Hämostas. 42 (1979) 6
10. Becker, H.M., Elert, D., Häring, R., Maurer, P.C., Raither, D., Sperling, M., Stockmann, N., Storz, L.W., Hirche, H.: Wirksamkeitsnachweis von Dusodril-Pi bei arterieller Verschlusskrankheit. Eine multizentrisch angelegte Doppelblind-Studie. Med.Welt 30 (1979) 1602
11. Betteridge, D.J., El Tahir, K.E.H., Reckless, J.P.D., Williams, K.I.: Platelets from diabetic subjects show diminished sensitivity to prostacyclin. Europ.J.Clin. Invest. 12 (1982) 395
12. Bollinger, A., Frei, C.: Double-blind study of pentoxifylline against placebo in patients with intermittent claudication. Pharmatherapeutica 1 (1977) 557
13. Born, G.V.R.: Aggregation of blood platelets by adenosin diphosphate and its reversal. Nature 194 (1962) 927
14. Borseý, D.Q., Dawes, J., Fraser, D.M., Prowse, C.V., Elton, R.A., Clarke, B.F.: Plasma beta-thromboglobulin in diabetes mellitus. Diabetologia 18 (1980) 353
15. Boudart, D., Ozanne, P., Leloup, R., Chysin, M.: Deformabilité érythrocytaire et hémoglobines glycosylées chez les diabétiques. Nouv.Presse.Med. 10 (1981) 910

16. Breddin, K., Grun, H., Krzywanek, H.J., Schremmer, W.P.: Zur Messung der "spontanen" Thrombozyten-aggregation. Plättchenaggregationstest III. Methodik. Klin.Wschr. 53 (1975) 81
17. Breddin, K., Loew, D., Lechner, K. et al.: Secondary prevention of myocardial infarction: a comparison of acetylsalicylic acid, placebo and phenprocoumon. Hämostas. 9 (1980) 325
18. Brevetti, G., Abata, S., Lavecchia, G., Ferulano, G., Paudice, G., Fasano, S.: Adaptation of arterial wall to physical stress before and after pentoxifylline administration. Paper read at XI.th.Int.Congr.Angiology (1978) Prague
19. Buchanan, N., Moodley, G.P.: The effect of pentoxifylline on human erythrocyte adenosine triphosphate. IRCS Med.Sci. 5 (1977) 43
20. Buckert, D., Harwart, D.: Trials of 3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-xanthine (BL 191) in double-blind test. Farmaco 31 (1976) 264
21. Burrows, A.W., Chavin, S.I., Hockaday, T.D.R.: Plasma-thromboglobulin concentrations in diabetes mellitus. Lancet 1 (1978) 235
22. Butkus, A., Skrinska, V.A., Schumacher, O.P.: Thromboxane production and platelet aggregation in diabetic subjects with clinical complications. Thromb.Res. 19 (1980) 211
23. Campbell, I.W., Dawes, J., Fraser, D.M., Pepper, D.S., Clarke, B.F., Duncan, L.J.P., Cash, J.D.: Plasma- β -thromboglobulin in diabetes mellitus. Diabetes 26 (1977) 1175

24. Canadian Co-operative Study Group: A randomized trial of aspirin and sulphinpyrazone in threatened stroke. *New Engl.J.Med.* 299 (1978) 53
25. Cerskus, A.L., Ali, M., Davies, B.J., McDonald, J.W.D.: Possible significance of small numbers of functional platelets in a population of aspirin-treated platelets in vitro and in vivo. *Thromb.Res.* 18 (1980) 389
26. Chmiel, H., Anadere, J., Heimberg, P.: The influence of i.v. application of pentoxifylline on the viscoelasticity of blood in patients with peripheral vascular disorders. *Ric.Clin.Lab.* 11 (1981) 1, 189
27. Claesson, H.E., Malmsten, C.: On the interrelationship of prostaglandin endoperoxide G2 and cyclic nucleotides in platelet function. *Eur.J.Biochem.* 76 (1977) 277
28. Cogan, D.G., Merola, L., Laibson, P.R.: Blood viscosity, serum hexosamine and diabetic retinopathy. *Diabetes* 10 (1961) 393
29. Coker, S.J., Parratt, J.R., Ledingham, I.M., Zeitlin, I.J.: Thromboxane and prostacyclin release from ischaemic myocardium in relation of arrhythmias. *Nature* 291 (1981) 323
30. Coldwell, B.B., Zawadzka, Z.: Effect of acute administration of acetylsalicylic acid on the prothrombin activity of bis-hydroxy-coumadin-treated rats. *Blood* 32 (1968) 945
31. Collier, B.S., Frank, R., Milton, R.C., Gralnick, H.R.: Plasma cofactors of platelet function: correlation with diabetic retinopathy and hemoglobins A1a-c. *Ann.Int.Med.* 88 (1978) 311
32. Colwell, J.A., Halushka, P.V., Sarji, K., Levine, J., Sagel, J., Nair, R.M.G.: Altered platelet function in diabetes mellitus. *Diabetes* 25, Suppl. 2 (1976) 826

33. Colwell, J.A., Lopes-Virella, M.F., Halushka, P.V.: Pathogenesis of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 4 (1981) 121
34. Crofford, O.B.: Report of the National Commission on Diabetes. NIH, DHEW Publication No 76-1018 (1976)
35. Davidson, R.J.L., Evan-Wong, L.A., Stowers, J.M.: The mean red cell volume in diabetes mellitus. *Diabetologia* 20 (1981) 583
36. Davis, J.W., Phillips, P.E., Yue, K.T.: Platelet aggregation. Adult-onset diabetes mellitus and coronary artery disease. *JAMA* 239 (1978) 732
37. Deuil, R.: Expérience au traitement au long cours des artériopathies diabétiques par la pentoxifylline ou Torental. *Med.Prat.* No.2 (1975) 574
38. Devehat, C., Lemoine, A.: Traitement de l'artérite diabétique par le pentoxifylline. *Vie Méd.* 58 (1977) 1405
39. Dintenfass, L.: Blood viscosity in severe non diabetic and diabetic retinopathy. *Biorheol.* 14 (1977) 151
40. Dintenfass, L., Davis, E.: Genetic and ethnic influences on blood viscosity and capillaries in diabetes mellitus. *Microvas.Res.* 14 (1977) 161
41. Ditzel, J., Moinat, P.: Changes in serum proteins, lipoproteins and protein bound carbohydrates in relation to pathological alterations in the micro-circulation of diabetic subjects. *J.Lab.Clin.Med.* 54 (1959) 843
42. Ditzel, J.: Whole blood viscosity and related components in diabetes mellitus. *Dan.Med.Bull.* 15 (1968) 49

43. Ditzel, J.: Changes in rheology and oxygen transport function of the erythrocytes in diabetes mellitus. 6th. Eur.Conf.Micro-circulation, Aalborg (1970) 123
44. Dodds, J.A., Dormandy, J.A. et al.: Haemorheological response to plasma exchange in Raynaud's syndrome. Brit.Med.J. 2 (1979) 1186
45. Dominguez D. et al.: Modification of psychometric, practical and intellectual parameters in patients with diffuse cerebrovascular insufficiency during prolonged treatment with pentoxifylline: a double-blind, placebo controlled trial. Pharmatherapeutica 1 (1977) 498
46. Dormandy, J., Ernst, E., Flute, P.: Increase in red cell filterability after incubation with oxpentifyllin. Curr.Med.Res.Opin. 7 (1981) 8
47. Ehrly, A.M.: Modification of erythrocyte deformability by pentoxifyllin. Med.Welt 26 (1975) 2300
48. Ehrly, A.M., Kohler, H.J.: Altered deformability of erythrocytes from patients with chronic occlusive arterial disease. Vasa 5 (1976) 319
49. Elwood, P.C., Sweetnam, P.M.: Aspirin and secondary mortality after myocardial infarction. Lancet 2 (1979) 1313
50. Ernst, E.: Klinische Hämorheologie. MMV-Medizin-Verlag München (1984)
51. Ernst, E., Matrai, A., Dormandy, J.A., Flute, P.: The influence of fibrinogen on red cell filterability. Clin.Hem. 3 (1983) 31
52. Ernst, E.: Sind "Rheologika" therapeutisch von Nutzen? Zeitschr.Allg.Med. 60 (1984) 192

53. Ernst, E., Marshall, M.: Acetylsalicylic acid is rheologically inactive and hence an ideal reference medication for clinical trials in hemorheology. Clin.Hem. 4 (1984) 563
54. Ernst, E., Matrai, A.: Hämorheologie und kardiovaskuläre Risikofaktoren - wenig beachtete Assoziationen. Herz/Kreislauf (4/1984) 165
55. Ernst, E., Matrai, A.: Plasmatische und erythrozytäre Determinanten der Blutviskosität. In: Klinische Rheologie und Beta-1-Blockade (Hrsg.: Heilmann, L., Kiesewetter, H., Ernst, E.) W. Zuckschwerdt Verlag GmbH, München, Bern, Wien (1984) 19
56. Ernst, E.: Behandlung der arteriellen Verschlusskrankheit im Stadium II. MMW 127 (1985) 917
57. Euler von, U.S.: Zur Kenntnis der pharmakologischen Wirkungen von Nativsekreten und Extrakten männlicher accessorischer Geschlechtsdrüsen. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 175 (1934) 78
58. Feine-Haake G.: Zur Objektivierung der therapeutischen Wirksamkeit von Trental 400: Doppelblind-Versuch bei geriatrischen Patienten mit Durchblutungsstörungen. Fortschr.Med. 95 (1977) 48
59. Fitzgerald, G.A., Smith, B., Pedersen, A.K., Brash, A.R.: Increased prostacyclin biosynthesis in patients with severe atherosclerosis and platelet activation. New Engl.J.Med. 310 (1984) 1065
60. Fitzpatrick, F.A., Gorman, R.R., McGuire, J.C., Kelly, R.C., Wynalda, M.A., Sun, F.F.: A radioimmunoassay for thromboxane B₂. Anal.Biochem. 82 (1977) 18

61. Fitzpatrick, F.A., Gorman, R.R.: Regulatory role of cyclic 3',5'-monophosphate on the platelet cyclooxygenase and platelet function. *Biochem.Biophys. Act.* 582 (1979) 44
62. Fjodorov, N.A., Jermiltschenko, G.V., Vinnizkij, L.I., Malychina, L.S., Krasjukova, L.I., Sedova, G.T., Jegorov, L.V.: Clinical and experimental investigations into the role of 3',5'cyclic monophosphate (cGMP) in the mechanism of action of pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 2, Suppl.1 (1978) 17
63. Fontaine, L., Grand, M., Chabert, J., Starvasi, E., Bayssat, M.: Pharmacologie générale d'une substance nouvelle vasodilatatrice le naftidrofuryl. *Bull.Chim. thérapeutic* 6 (1968) 463
64. Friedman, , R.J., Burns, E.R.: Role of platelets in the proliferative response of the injured artery. *Prog.Hemostas.Thromb.* 4 (1978) 249
65. Fuller, J.H., Keen, H., Jarrett, R.J., Omer, T., Meade, T.W., Chkrabarti, R., North, W.R.S., Stirling, Y.: Haemostatic variables associated with diabetes and its complications. *Br.Med.J.* 2 (1979) 964
66. Fuller, J.H.: Hemostatic Function Tests Associated with Diabetic Microangiopathy. *Horm.Met.Res.*, Suppl.11 (1981) 59
67. Fuster, V., Chesebro, J.H., Frye, R.L., Elveback, L.R.: Platelet survival and the development of coronary artery disease in the young adult: effects of cigarette smoking, strong family history and medical therapy. *Circulation* 63 (1981) 546
68. Ganda, O.M.: Pathogenesis of macrovascular disease in the human diabetic. *Diabetes* 29 (1980) 931

69. Gandolfo, G.M., De Angelis, A., Torresi, M.V.: Determination of antithrombin III activities by different methods in diabetic patients. *Haemostasis* 9 (1980) 15
70. Goldblatt, M.W.: A depressor substance in seminal fluid. *J.soc.Chem.Ind.* (London) 52 (1933) 1956
71. Goldsweig, H.G., Kapusta, M., Schwartz J.: Bleeding, salicylates and prolonged prothrombin time. Three case reports and a review of the literature. *J.Rheum.* 3 (1976) 37
72. Gorbatschova, F.E., Turaschwili, G.A., Kvassov, V.T., Milovanova, N.M., Tschistjakova, M.A., Litwinova, V.P., Sokolovskij, G.A.: The circulatory and clinical effect of pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 2, Suppl.1 (1978) 100
73. Gorman, R.R., Bunting, S., Miller, O.V.: Modulation of human platelet adenylate cyclase by Prostacyclin (PGX). *Prostaglandins* 13 (1977) 377
74. Gorman, R.R., Fitzpatrick, F.A., Miller, O.V.: Reciprocal regulation of human platelet cAMP levels by thromboxane A₂ and prostacyclin. *Adv.Cycl.Nucl.Res.* 9 (1978) 597
75. Gorman, R.R.: Modulation of human platelet function by prostacyclin and thromboxane A₂. *Fed.Proc.* 38 (1979) 83
76. Gormsen, J., Nielsen, J.D., Andersen, L.A.: ADP-induced platelet aggregation in vitro in patients with ischemic heart disease and peripheral thromboatherosclerosis. *Acta Med.Scand.* 201 (1977) 509
77. Granström, E., Kindahl, H.: Radioimmunoassay of prostaglandins and thromboxanes. *Adv.Prostaglandin Thromboxane Res.* 5 (1978) 119

78. Grigoleit, H.-G., Jacobi, G.: Microrheological effects of the vasoactive compound 3,7-dimethyl 1-(5 oxo-hexyl)-xanthine (pentoxifylline, BL 191). *Vasa* 6 (1977) 274
79. Guerrini, M., Pecchi, S., Rossi, C., Cappelli, R., Pieragalli, D., Acciavatti, A.: Effect of pentoxifylline on blood hyperviscosity and peripheral haemodynamics in patients with peripheral obliterating arterial disease. *Pharmatherapeutica* 3, Suppl.1 (1983) 52
80. Guillot, M., Marcell, G.A., Stoltz, F.: Influence of pentoxifylline on erythrocyte filterability and microrheology - a pharmacological study. 3rd Int.Congr. Biorheol. La Jolla CA (1978)
81. Haanen, C., Holdriut, A.: Blood platelet aggregation under various conditions and in some disease. *Exp.Biol.Med.* 3 (1968) 164
82. Haeringen van, N.J., Oosterhuis, J.A., Terpstra, J., Glasius, E.: Erythrocyte aggregation in relation to diabetic retinopathy. *Diabetologia* 9 (1973) 20
83. Halushka, P.V., Rogers, C., Loadholt, C.B., Colwell, J.A.: Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. *J.Lab.Clin.* 97 (1981) 87
84. Hamberg, M., Svensson, J., Samuelsson, B.: Prostaglandin endoperoxides. A new concept concerning the mode of action and release of prostaglandins. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 71 (1974) 3824
85. Hamberg, M., Svensson, J., Samuelsson, B.: Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 72 (1975) 2994

86. Harker, L.A., Slichter, S.J.: Studies of platelets and fibrinogen kinetics in patients with prosthetic heart valves. *New Engl.J.Med.* 283 (1970) 1302
87. Harlan, J.M., Harker, L.A.: Hemostasis, thrombosis, and thromboembolic disorders. The role of arachidonic acid metabolites in platelet-vessel wall interactions. *Med.Clin.N.Amer.* 65 (1981) 855
88. Hathaway, D.R., Eaton, C.R., Adelstein, R.S.: Regulation of human platelet myosin kinase by calcium-calmodulin and cyclic AMP. In: *The Regulation of Coagulation* (Ed.: Mann, K.G.) New York, Elsevier (1980) 271
89. Heath, H., Bridgen, W.D., Canevar, J.V., Pollock, J., Hunter, P.R., Kelsey, J., Bloom, A.: Platelet adhesiveness and aggregation in relation to diabetic retinopathy. *Diabetologia* 7 (1971) 308
90. Heidrich, H., Witt, D., Witt, E.: Periphere Durchblutungsgrößen bei arterieller Verschlusskrankheit unter i.v. Langzeittherapie mit gefäßaktiven Pharmaka. *Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med.* 83 (1977) 1750
91. Heidrich, H., Haxter, L., Schneider, D., Zschiedrich, M.: Verhalten der Thrombozytenaggregation unter Bencyclan, Naftidrofuryl, Pentoxifyllin und Kochsalz. Klinische Doppelblind-Studie. In: *Therapiekontrolle in der Angiologie* (Hrsg.: Hild, K., Spaan, G.) Gerhard Witzstrock, Baden-Baden, Köln, New York (1979) 402
92. Hellem, A.J.: Adenosine diphosphate induced platelet adhesiveness in diabetes mellitus with complications. *Acta Med.Scand.* 190 (1971) 291
93. Hess, H., Jauch, M.: Medikamentöse Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes. *Fortschr.Med.* 91 (1973) 743

94. Hill, M.A., Court, J.M., Mitchell, G.M.: Blood rheology and microalbuminuria in type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 2 (1982) 985
95. Holmsen, H.: Prostaglandin endoperoxidethromboxane synthesis and dense granule secretion as positive feedback loops in the propagation of platelet responses during "The Basic Platelet Reaction". *Thromb.Haemostas.* (Stuttg.) 38 (1977) 1030
96. Hope, W., Martin, T.J., Chesterman, C.N., Morgan, F.J.: Human β -thromboglobulin inhibits PGI₂ production and binds to a specific site in bovine aortic endothelial cells. *Nature* 282 (1979) 210
97. Hornych, A., Krief, C., Bariety, J.: Radioimmunoassay measurement of thromboxane B₂ in human plasma and urine. *Prostaglandins Leukotrienes Med.* 8 (1982) 467
98. Isogai, Y., Ichiba, K., Iida, A., Chikatsu, I., Abe, M.: Viscosity of blood and plasma in various diseases. In: *Theoretical and Clinical Hemorheology*. Proc. 2nd Int. Conf. Hemorheol., Heidelberg, 1969, (Eds.: Hartert, H., Copley, A.L.) Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1971) 326
99. Isogai, Y., Iida, A., Michizuki, K., Abe, M.: Hemorheological studies on the pathogenesis of diabetic microangiopathy. *Thromb.Res.* 8, Suppl.2 (1976) 17
100. Isogai, S., Mochzuki, K., Maeda, T.: Red cell deformability in diabetes. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 41, Suppl.156 (1981) 171
101. Janka, H.U.: Spätfolgen des Diabetes mellitus. *Der inform. Arzt* 15 (1981) 26

102. Janka, H.U.: Thrombozytenfunktion bei diabetischer Angiopathie. Thieme-Verlag Stuttg. (1983) (Thieme-Copytek)
103. Janka, H.U., Grünwald, P., Waldmann, G., Standl, E., Mehnert, H.: Carotisstenosen, kardiovaskuläres Risikoprofil und assoziierte Makroangiopathie bei Diabetikern. Vasa 11 (1982) 111
104. Janka, H.U., Standl, E., Mehnert, H.: Peripheral vascular disease in diabetes mellitus and its relation to cardiovascular risk factors: screening with the Doppler ultrasonic technique. Diabetes Care 3 (1980) 207
105. Janka, H.U., Standl, E., Mehnert, H.: Increased platelet adenylate cyclase activity in diabetic patients with microangiopathy. Horm.Metabol.Res. 26, Suppl.11 (1981)
106. Jarret, P.E.M., Moreland, M., Browse, N.L.: The effect of oxpentifylline ("Trental") on fibrinolytic activity and plasma fibrinogen levels. Curr.Med.Res.Opin. 4 (1977) 492
107. Johnson, M., Harrison, H.E., Raftery, A.T., Elder, J.B.: Vascular prostacyclin may be reduced in diabetes in man. Lancet 1 (1979) 325
108. Juhan, I., Juhan, J., Bayle, J., Vague, Ph., Juhan, C.: Déformabilité des hématies chez les diabétiques. Nouv. Presse Med. 7 (1978) 759
109. Juhan, I., Buonocore, M., Vovan, L., Durand, F., Calas, M.F., Moulin, J.P., Vague, P.: Filtrabilité des hématies chez les diabétiques. Influence de la glycémie et variations après connection à un pancréas artificiel. Nouv. Presse Med. 8 (1979) 4083

110. Juhan, I., Vague, Ph., Buonocore, M., Moulin, J.P., Calas, M.F., Malettes, B., Verdoot, J.J.: Effects of insulin on erythrocyte deformability in diabetics: relationship between erythrocyte deformability and platelet aggregation. Scand.J.Clin.Lab.Invest. 41, Suppl.156 (1981) 159
111. Juhan-Vague, I., Rahmani-Jourdheuil, D., Mourayre, Y., Aillaud, M.F., Vague, P., Mishal, Z.: Study of red blood cell membran fluidity in insulin-dependent diabetics using fluorescence polarization. Effect of insulin. Proc.4th.Europ.Conf.Clin.Hemorheol. Siena (1985)
112. Kellner, H.: Zur Behandlung chronischer arterieller Durchblutungsstörungen. Doppelblindversuch mit Trental 400. MMW 118 (1976) 1399 (In English)
113. Kiese Wetter, H., Radke, H., Schneider, R., Mußler, K., Scheffler, A., Schmid-Schönbein, H.: Das Mini-Erythrozyten-Aggregometer: Ein neues Gerät zur schnellen Quantifizierung der Erythrozytenaggregation. Biomed. Technik 27 (1982) 209
114. Kirchmaier, C., Grun, H., Rheinfelder, B., Rüfer, A., Trautmann, O., Sehrbrock, M., Breddin, K.: Zur Hemmung von ASS und Dipyridamol auf die Stimulation der Thrombozyten. In: Fibrinolyse, Thrombose, Haemostase (Hrsg.: Deutsch, E., Lechner, K.) Schattauer, Stuttg. - New York (1980) 759
115. Knight, K., Rampling, M.W., Sirs, J.A.: Erythrocyte flexibility in blood from patients with diabetes mellitus. Biorheol. 15 (1978) 51
116. Koyama, T., Kikuchi, Y.: Reduced red cell filterability due to red cell plasma protein interactions. Biorheology 19 (1982) 579

117. Kwaan, H.C., Colwell, J.A., Cruz, S., Suwanwela, N., Dobbie, J.G.: Increased platelet aggregation in diabetes mellitus. *J.Lab.Clin.Med.* 80 (1972) 236
118. LaCelle, P.L.: Behavior of abnormal erythrocytes in capillaries. In: *Erythrocyte mechanics and blood flow* (Eds.: Coklet, G.R., Meiselman, H.J., Brooks, D.E.) Alan R. Liss, New York (1980) 195
119. Langer, I., Bergentz, S.E., Bjure J., Fagerberg, S.E.: The effect of exercise on haematocrit, plasma volume and viscosity in diabetes mellitus. *Diabetologia* 7 (1971) 29
120. LeDevehat, C., Lemoine, A., Cirette, B., Romet, M.: Red cell filterability and metabolic state in diabetic subjects with macroangiopathy. *Scand.J.Clin.Lab. Invest.* 41, Suppl. 156 (1981) 155
121. Leitner, C., Sinzinger, H., Silberbauer, K.: Prostazyklin - ein Schutzfaktor für die Blutgefäße. *Fortschr.Med.* 98 (1980) 1845
122. Leonhardt, H., Grigoleit, H.G., Reinhardt, J.: Erythrocyte deformability in a red cell ageing model. *La Ric.Clin.Lab.* 8 (1978) 65
123. Little, H., Sacks, A.H.: Role of abnormal blood rheology in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Tr.Am.Acad.Ophth. and Otol.* 83 (1977) 522
124. Löffler, G., Weiss, L.: Intermediärstoffwechsel der Lipide. In: *Physiologische Chemie* (Hrsg.: Löffler, G., Weiss, L., Petrides, E., Harper, H.) Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1979) 36
125. Loew, D., Vinazzer, H.: Dose-dependent influence of acetylsalicylic acid on platelet functions and plasmatic coagulation factors. *Haemostasis* 5 (1976) 239

126. Lowe, G.D.O., Lowe, J.M., Drummond, M.M., Reith, S., Belch, J.J.F., Kesson, M., Wylie, A., Foulds, W.S., Forbes, C.D., Mac Cuish, M.C., Manderson, W.G.: Blood viscosity in young male diabetics with and without retinopathy. *Diabetologia* 18 (1980) 359
127. Ludlam, C.A., Cash, J.D.: Studies on the liberation of β -TG from human platelets in vitro. *Brit.J.Haematol.* 33 (1976) 239
128. Ludlam, C.A., Moore, S., Bolton, A.E., Pepper, D.S., Cash, J.D.: The release of a human platelet-specific protein measure by radioimmuno assay. *Thromb.Res.* 6 (1975) 543
129. Lufkin, E.G., Fass, D.N., O'Fallon, W.M., Bowie, E.J.W.: Increased von Willebrand factor in diabetes mellitus. *Metabolism* 28 (1979) 63
130. Lusov, V.A., Belousov, Ju.B., Sidelmann, A.A., Savenkov, M.P., Cholodova, O.E., Dudaev, V.A.: The treatment of peripheral atherosclerosis with pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 2, Suppl.1 (1978) 123
131. Marcel, G.A.: Pharmacological improvement of altered red cell deformability. In: *Symposium on Recent Developments in Microcirculation Research* (Eds.: Davis, E., Marcel, G.A.), *Excerpta Medica*, Amsterdam (1981) 4
132. Marcus, A.J.: Platelet aggregation. In: *Hemostasis and thrombosis* (Eds.: Colman, R.W., Hirsch, J., Marder, V.J., Salzman, E.W.) *J.B. Lippincott*, Philadelphia-Toronto (1982) 380
133. Marks, H.H., Krall, L.P.: Onset, course, prognosis and mortality in diabetes mellitus. In: *Joslin's Diabetes mellitus* (Eds.: Marble, A., White, P., Bradley, R.F., Krall, L.P.) *Lea & Febinger*, Philadelphia (1971) 209

134. Masotti, G., Galanti, G., Poggesi, L., Abbate, R., Neri Seneri, G.G.: Differential inhibition of prostacyclin production and platelet aggregation by aspirin. *Lancet* 2 (1979) 1213
135. Matrai, A., Ernst, E., Flute, P.T., Dormandy, J.A.: Blood filterability in peripheral vascular disease - red cell deformability or cell sticking? *Clin.Hemorheol.* 4 (1984) 311
136. Matrai, A., Ernst, E.: Pentoxifylline improves white cell rheology in claudicants. *Clin.Hemorheol.* 5 (1985) 483
137. Maurin, A.N., Boateng, K.: Influence of pentoxifylline on erythrocyte deformability in peripheral occlusive arterial disease. *Curr.Med.Res.Opin.* 6 (1979) 255
138. Maurin, N., Angelkort, B.: Bestimmung des Prostacyclin-Metaboliten 6-Keto-Prostaglandin $F_{1\alpha}$ im extrahierten Plasma mit einem ^{125}J -RIA-Kit. *Herzmedizin* 7 (1984) 82
139. Maurin, N., Angelkort, B.: Bestimmung von Thromboxan B_2 im Plasma mit einem ^{125}J -RIA-Kit. *Herzmedizin* 7 (1984) 5
140. Mausolf, F.A., Mensher, J.H.: Experimental hyperviscosity retinopathy: preliminary report. *Ann.Ophth.* 5 (1973) 205
141. Mayne, E.E., Bridges, J.M., Weaver, J.A.: Platelet adhesiveness, plasma fibrinogen and factor VIII levels in diabetes mellitus. *Diabetologia* 6 (1970) 436
142. McCann, D., Tokarsky, S., Sorkin, R.: *Clin.Chem.* 27 (1981) 1417

143. McMillan, D.E., Utterback, N.G., Sparks, L.L., Bramwell, P.C.: Impaired erythrocyte doublet formation in diabetes. *Diabetologia* 21 (1981) 575
144. Milligan, D.W.: Red cell deformability in polycythemia vera: the influence of white cell contamination. *Clin.Hemorheol.* 3 (1983) 155
145. Mills, D.C.B., Smith, J.B.: The influence on platelet aggregation of drugs that effect the accumulation of adenosin 3'5'-cyclic ϕ monophosphate in platelets. *Biochem.J.* 121 (1971) 185
146. Mitchell, J.R.A.: Secondary prevention of myocardial infarction. *Brit.Med.J.* 1 (1980) 1128
147. Moncada, S., Higgs, E.A., Vane, J.R.: Human arterial and venous tissue generate ϕ prostacyclin (prostaglandin X) - a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet* 1 (1977) 18
148. Moncada, S., Vane, J.R.: Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessel walls. *N.Engl.J.Med.* 300 (1979) 1142
149. Moore, S., Pepper, D.S.: Identification and characterisation of a platelet-specific release product: β -thromboglobulin. In: *Platelets in Biology and Pathology* (Ed.: Gordon, J.L.) Elsevier, Amsterdam (1976) 293
150. Morse, E.E., Kalachie, G.: Increased electronic mean corpuscular volume induced by marked hyperglycaemia. *Ann.Clin.Lab.Sci.* 11 (1981) 184
151. Mustard, J.F., Packham, M.A.: Editorial retrospective - Platelets and diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 311 (1984) 665

152. O'Brien, J.R.: The adhesiveness of native platelets and its prevention. *J.Clin.Path.* 14 (1961) 140
153. O'Brien, J.R.: Effects of salicylates on human platelet. *Lancet* i (1968) 779
154. O'Malley, B.C., Ward, J.D., Timperley, W.R., Porter, N.R., Preston, F.R.: Platelet abnormalities in diabetic peripheral neuropathy. *Lancet* 2 (1975) 1274
155. Oughton, J., Barnes, A.J.: Red cell filterability in diabetes mellitus: it's relation to other methods of measuring deformability and to blood viscosity. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 41, Suppl.156 (1981) 147
156. Paretti, F.I., Mannucci, P.M., Smith, J.B.: Platelets and the vessel wall: how much aspirin? *Lancet* 1 (1980) 371
157. Perego, M.A., Sergio, G., Artale, F.: Aspetti emoreologici in rapporto alla fisiopatologia e alla clinica dell' arteriopatia ostruttiva periferica. *Ric.Clin.Lab.* 11, Suppl.1 (1981) 281 (In English)
158. Petersen, H.D., Gormsen, J.: Platelet aggregation in diabetes mellitus. *Acta Med.Scand.* 203 (1978) 125
159. Poon, P.Y.W., Dorman, T.L., Orde-Pecker, C., Mullins, R., Bron, A.J., Turner, R.C.: Blood viscosity, glycaemia control and retinopathy in insulin dependent diabetes. *Clin.Sci.* 63 (1982) 211
160. Porta, M., Hilgard, P., Kohner, E.M.: Platelet shape change abnormalities in diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 18 (1980) 217

161. Preston, F.E., Ward, J.D., Marcola, B.H., Porter, N.R., Timperley, W.R., O'Malley, B.C.: Elevated β -thromboglobulin levels and circulating platelet aggregates in diabetic microangiopathy. *Lancet* 1 (1978) 238
162. Preston, F.E., Whipps, S., Jackson, C.A., French, A.J., Wyld, P.J., Stoddard, C.J.: Inhibition of prostacyclin and platelet thromboxane A_2 after low-dose aspirin. *N.Engl.J.Med.* 304 (1981) 76
163. Rand, P.W., Norton, J.M., Barker, N.D., Richards, A.L., Lacombe E.H., Pirone, L.A.: Effects of diabetes mellitus on red cell properties. *Clin.Hemorheol.* 1 (1981) 373
164. Rees, S.B., Simon, L., Peltier, G.A., Balodimos, M., Gleason, R., Marble, A., Merrill, E.L.O.: Hemorheologic studies during the progression and remission of diabetic retinopathy. *Biorheol.* 4 (1967) 102
165. Reimers, H.J.: Die Rolle der Thrombozyten in der Pathogenese der Koronarthrombose. *Hämostaseologie* 1 (1981) 13
166. Rieger, H., Klose, J.J., Schmid-Schönbein, H., Wurzinger, L.: The effect of orally administered bencyclane on spontaneous platelet aggregation as a function of bencyclane concentration in coded samples. *Thromb.Res.* 12 (1978) 353
167. Ritchie, J.L., Harker, L.A.: Platelet and fibrinogen survival in coronary atherosclerosis. *Am.J.Cardiolog.* 39 (1977) 595
168. Ritter, J.M., Barrow, S.E., Blair, I.A., Dollery, C.T.: Release of prostacyclin in vivo and its role in man. *Lancet* 1 (1983) 317

169. Rosenblum, W.I., El-Sabban, F., Loria, R.M.: Platelet aggregation in the cerebral and mesenteric microcirculation of mice with genetically determined diabetes. *Diabetes* 30 (1981) 89
170. Rosenkranz, B., Fischer, C., Weimer, K.E. et al.: Metabolism of prostacyclin and 6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$ in man. *J.Biol.Chem.* 255 (1980) 10194
171. Ross, R., Glomset, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *N.Engl.J.Med.* 295 (1976) 369
172. Roth, G.J., Majerus, P.W.: The mechanism of the effect of aspirin on human platelets. Acetylation of a particulate fraction protein. *J.Clin.Invest.* 56 (1975) 624
173. Sagel, J., Colwell, J.A., Crook, L., Laimins, M.: Increased platelet aggregation in early diabetes mellitus, *Ann.Int.Med.* 82 (1972) 733
174. Salzman, E.W.: Cyclic AMP and platelet function. *N.Engl.J.Med.* 286 (1972) 358
175. Satewachin, I.I., Iljin, V.N., Schestakov, V.A., Alexandrova, N.P., Radionov, S.V., Danilova, L.M., Iljin, S.G.: The use of pentoxifylline in a combined regimen for the prevention of re-thrombosis in major blood vessels. *Pharmatherapeutica* 2, Suppl.1 (1978) 109
176. Satoh, M., Imaizumi, K., Bessho, T., Shiga, T.: Increased erythrocyte aggregation in diabetes mellitus and it's relationship to glycosylated haemoglobin and retinopathy. *Diabetologia* 27 (1984) 517
177. Scherthaner, G., Silberbauer, K., Sinzinger, H., Müller, M.: Plasma β -thromboglobulins and glycosylated haemoglobin (HbA) in type I and II diabetes mellitus. *Thromb.Haemostas.* 42 (1979) 334

178. Schernthaner, G., Sinzinger, H., Silberbauer, K., Freyler, H., Mühlbauer, I., Kaliman, J.: Vascular prostacyclin, platelet sensitivity to prostaglandins and platelet specific proteins in diabetes mellitus. *Horm. Metabol. Res.*, Suppl. 11 (1981) 33
179. Schmid-Schönbein, H., Volger, E.: Red cell aggregation and red cell deformability in diabetes. *Diabetes* 25, Suppl. 2 (1976) 897
180. Schubotz, R.: Double blind trial of pentoxifylline in diabetics with peripheral vascular disorders. *Pharmatherapeutica* 1 (1976) 172
181. Schubotz, R., Mühlfellner, O.: The effect of pentoxifylline on erythrocyte deformability and on phosphatide fatty acid distribution in the erythrocyte membrane. *Curr. Med. Res. Opin.* 4 (1977) 609
182. Seiffge, D.: Effect of pentoxifylline on red cell aggregation. *IRCS Med. Sci.* 8 (1980) 727
183. Seitz, D.: Neuropathie bei Diabetes mellitus. In: *Praktische Diabetologie* (Hrsg.: Robbers, H., Sauer, H., Willms, B.) Werk-Verlag Dr. Edmund Banaschewski, München-Gräfelfing (1981) 230
184. Sewchand, L.S., Hampel, W.L., Diddie, K.R., Meiselman, H.J.: Membrane mechanical properties of erythrocytes from patients with diabetic retinopathy. *Microcirculation* 1 (1982) 361
185. Shiga, T. et al.: Rheological and functional impairments in cholesterol loaded human erythrocytes. *Experimentia* 36 (1980) 127
186. Silberbauer, K., Schernthaner, G., Sinzinger, H., Piza-Katzer, H., Winter, M.: Decreased vascular prostacyclin in juvenile-onset diabetes. *N. Engl. J. Med.* 300 (1979) 367

187. Sinzinger, H., Silberbauer, K.: Zum gegenwärtigen Stand der Prostacyclin-Story für die Klinik. VASA 10 (1981) 70
188. Skidgel, R.A., Printz, M.P.: PGI₂ production in rat blood vessels: diminished prostacyclin formation in veins compared to arteries. Prostaglandins 16 (1978) 1
189. Skovborg, F., Nielson, A.V., Schlicht-Krull, J., Ditzel, J.: Blood viscosity in diabetic patients. Lancet 1 (1966) 129
190. Skovborg, F.: Blood viscosity in normal and diabetic subjects. A clinical and haemorheological study. FADL's Forlag, Kobenhavn, Aarhus, Odense (1974)
191. Sowers, J.R., Tuck, M.L., Sowers, D.K.: Plasma antithrombin III and thrombin generation time: correlation with hemoglobin A₁ and fasting serum glucose in young diabetic women. Diabetes Care 3 (1980) 655
192. Stäubli, M., Reinhart, W., Straub, P.W.: Blood viscosity and red cell deformability after aspirin in vivo. A double blind controlled trial. Atherosclerosis 41 (1982) 167
193. Stefanovich, V., Jarvis, R., Grigoleit, H.G.: The effect of pentoxifylline on the 3'5'-cyclic AMP-system in bovine platelets. Int.J.Biochem. 8 (1977) 359
194. Stoltz, J.F., Gaillard, S., Drouin, P.: Hemorheology in diabetes mellitus. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 87 (1981) 1302
195. Stuart, J., Kenny, M.W., Aukland, A., George, A.J.; Neumann, V., Shapiro, L.M., Cove, D.H.: Filtration of washed erythrocytes in atherosclerosis and diabetes mellitus. Clin.Hemorheol. 3 (5) (1983) 23

196. Stuart, M.J., Gerrard, J.M., White, J.G.: Effect of cholesterol on production of thromboxane B₂ by platelets in vitro. N.Engl.J.Med. 302 (1980) 6
197. Swank, L.: Blood viscosity in cerebrovascular disease. Effects of low fat and heparin. Neurology 9 (1959) 553
198. Takamatsu, S., Takamatsu, M., Satoh, K., Sakuta, S., Mizuna, S.: A two-year follow up study on blood constituents in aged arteriosclerotic patients treated with pentoxifylline. Paper read XXVIII. Int. Congr. Physiol. Sci. (1980) Tübingen
199. Tateson, J.E., Moncada, S., Vane, J.R.: Effects of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentrations in human platelets. Prostaglandins 13 (1977) 389
200. Tonak, J., Knecht, H., Groitl, H.: Zur Behandlung von Durchblutungsstörungen mit Pentoxifyllin. Eine Doppelblindstudie mit Trental. Med. Monatsschr. 31 (1977) 467 (In English)
201. Vane, J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of aspirin-like drugs. Nature (London) 231 (1971) 232
202. Völker, D.: Behandlung von Arteriopathien mit Trental 400. Med. Welt 29 (1978) 1244 (In English)
203. Wahl, P.: Das diabetische Gefäßleiden. In: Praktische Diabetologie (Hrsg.: Robbers, H., Sauer, H., Willms, B.) Werk-Verlag Dr. Edmund Banaschewski, München-Gräfelfing (1981) 204
204. Walter, E., Weber, E.: Überwachung der Behandlung mit Aggregationshemmern. Med. Welt 27 (1976) 1369

205. Walter, E., Weber, E.: Unterschiedliches Langzeitverhalten der Thrombocytenfunktion nach Myocardinfarkt in Abhängigkeit von der verwendeten Testmethode. In: Prostaglandine und Plättchenfunktion (Hrsg.: Breddin, K.) Schattauer, Stuttgart-New York (1978) 139
206. Walter, E., Weber, E.: Thrombozytenaggregation, Physiologie und pharmakologische Beeinflussung. Hämostaseologie 1 (1981) 73
207. Weithmann, K.U.: The influence of pentoxifylline on interactions between blood vessel wall and platelets. IRCS Med.Sci. 8 (1980) 293
208. Weksler, B.B., Nachmann, R.L.: Platelets and atherosclerosis. Am.J.Med. 71 (1981) 331
209. Wenzel, E.: Einfluß von Pentoxiphyllin auf charakteristische Thrombozytenaggregations- und fragmentations-Phänomene. Med. Welt 26 (1975) 2100
210. Willars, E.J., Hunt, W.B., Clark, P.C., Barnes, A.J.: Micropipette studies in diabetes mellitus. Proc. 4th. Europ.Conf.Clin. Haemorheol. (1985) Siena
211. Winkewender, W., Adams, K., Lineberger, Th., Johnson, G.: Blood filtration in patients with peripheral vascular disease. Clin.Hemorheol. 2 (1982) 201
212. Zahavi, J., Betteridge, D.J., Jones, N.A.G., Leyton, J., Galton, D.J., Kakkar, V.V.: Enhanced in-vivo platelet release reaction in diabetic patients with retinopathy. In: Angiology and Thrombosis, Serono Symposia, Academic Press, London (1981)

213. Zahavi, J., Jones, N.A.G., Betteridge, D.J., Leyton, J., Galton, D.J., Clark, S.E., Kakkar, V.V.: Platelet factor 4, β -thromboglobulin, malondialdehyde formation and blood lipids in patients with diabetes mellitus. *Thromb.Haemostas.* 42 (1979) 334
214. Zahavi, J., Jones, N.A.G., Leyton, J., Dubiel, M., Kakkar, V.V.: Enhanced in-vivo platelet "release reaction" in old healthy individuals. *Thromb.Res.* 17 (1980) 329
215. Ziboh, V.A., Maruta, H., Lord, J., Cagle, W.D., Lucky, W.: Increased biosynthesis of thromboxane A₂ by diabetic platelets. *Eur.J.Clin.Invest.* 9 (1979) 223
216. Zingg, W., Sueler, I.C., Morgan, C.D., Ehrlich, R.M.: Blood viscosity in diabetic children. *Diabetologia* 7 (1971) 461

7. Anhang

7.1. Abkürzungsverzeichnis

ADP	= Adenosindiphosphat
ASS	= Acetylsalicylsäure
AT III	= Antithrombin III
β -TG	= Beta-Thromboglobulin
EA	= Erythrozytenaggregation
EF	= Erythrozytenfiltration
HbA _{1c}	= Hämoglobin A _{1c}
6-Keto-PGF _{1α}	= 6-Keto-Prostaglandin F _{1α}
PG	= Prostaglandin
PTT	= Partielle Thromboplastin-Zeit
FV	= Plasmapviskosität
TA	= Thrombozytenaggregation
TXB ₂	= Thromboxan B ₂
VBV	= Vollblutviskosität
VBV _n	= native Vollblutviskosität
VBV _k	= Hk-45-korrigierte Vollblutviskosität

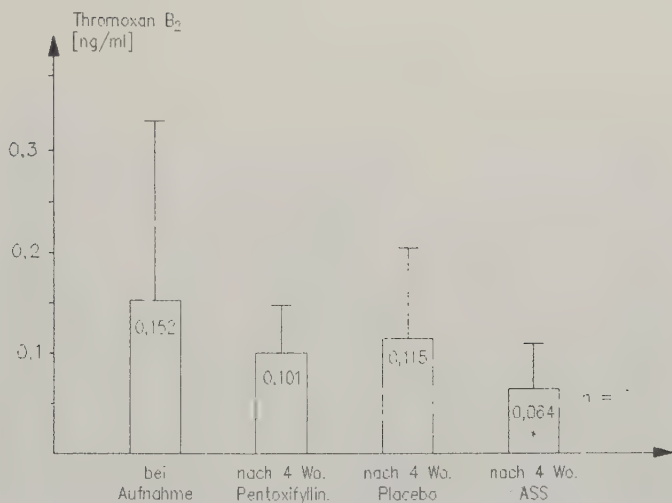


Abb.20: Graphische Darstellung der Ergebnisse für Thromboxan B₂ im Therapieschema I (* signifikant)

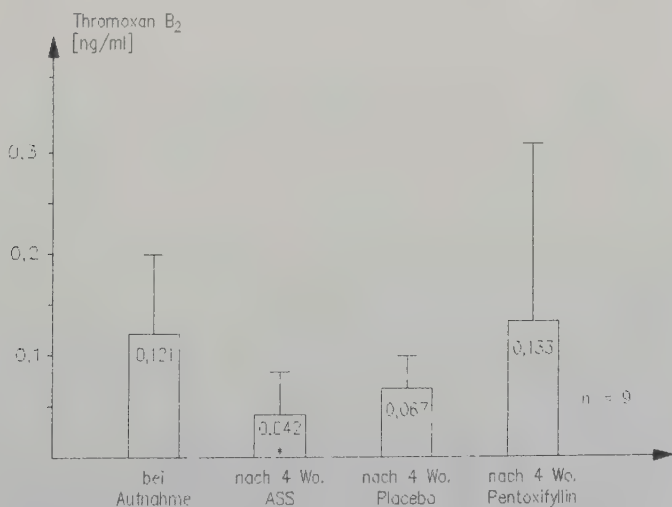


Abb.21: Graphische Darstellung der Ergebnisse für Thromboxan B₂ im Therapieschema II (* signifikant)

Ausgangswert	VBV_0 [mPos] $0,7 \text{ s}^{-1}$	VBV_0 [mPos] $2,4 \text{ s}^{-1}$	VBV_0 [mPos] $94,5 \text{ s}^{-1}$	VBV_k [mPos] $0,7 \text{ s}^{-1}$	VBV_k [mPos] $2,4 \text{ s}^{-1}$	VBV_k [mPos] $94,5 \text{ s}^{-1}$
Placebowert	$30,9 \pm 6,8$	$16,4 \pm 3,1$	$4,96 \pm 0,56$	$30,5 \pm 4,1$	$16,2 \pm 1,7$	$5,00 \pm 0,50$
unter Pentoxifyllin	$33,5 \pm 7,5$	$18,2 \pm 3,7$	$5,14 \pm 0,55$	$29,9 \pm 5,3$	$16,4 \pm 2,0$	$4,89 \pm 0,28$
%-Diff. unter Pentoxifyllin	$30,9 \pm 5,6$	$16,9 \pm 2,9$	$5,00 \pm 0,48$	$29,2 \pm 4,6$	$16,1 \pm 1,5$	$4,97 \pm 0,23$
unter ASS	$-4,0\% \pm 19,0\%$	$-2,0\% \pm 16,1\%$	$-1,3\% \pm 8,3\%$	$-3,5\% \pm 8,0\%$	$-1,3\% \pm 6,8\%$	$-0,7\% \pm 4,2\%$
%-Diff. unter ASS	$29,7 \pm 5,9$	$16,5 \pm 2,9$	$4,94 \pm 0,47$	$28,3 \pm 4,5$	$15,8 \pm 1,6$	$4,86 \pm 0,27$
	$-3,5\% \pm 18,1\%$	$-1,1\% \pm 13,7$	$-0,9\% \pm 7,0\%$	$-4,3\% \pm 16,6\%$	$-1,8\% \pm 15,1\%$	$-1,6\% \pm 9,9\%$
Ausgangswert Schema I	$30,9 \pm 7,2$	$16,5 \pm 3,7$	$4,98 \pm 0,59$	$29,6 \pm 3,3$	$15,8 \pm 1,2$	$4,90 \pm 0,26$
unter Pentoxifyllin	$29,2 \pm 6,9$	$16,1 \pm 3,4$	$4,92 \pm 0,54$	$28,0 \pm 3,2$	$15,5 \pm 1,4$	$4,87 \pm 0,70$
%-Diff. unter Pentoxifyllin	$-4,6\% \pm 16,9\%$	$-1,4\% \pm 15,0\%$	$-0,8\% \pm 7,7\%$	$-5,0\% \pm 9,0\%$	$-1,6\% \pm 7,8\%$	$-0,6\% \pm 5,5\%$
Ausgangswert Schema II	$30,8 \pm 6,7$	$16,2 \pm 2,7$	$4,94 \pm 0,56$	$31,4 \pm 4,9$	$16,6 \pm 2,0$	$5,10 \pm 0,65$
unter ASS	$28,9 \pm 4,6$	$16,2 \pm 2,4$	$4,88 \pm 0,46$	$27,6 \pm 5,8$	$15,4 \pm 1,8$	$4,76 \pm 0,22$
%-Diff. unter ASS	$-3,1\% \pm 24,3\%$	$1,3\% \pm 17,2\%$	$-0,8\% \pm 8,7\%$	$-12,1\% \pm 12,1\%$	$-6,1\% \pm 13,5\%$	$-5,7\% \pm 10,2\%$

Tab.29: Darstellung der Ergebnisse für die native und HK-45-korrigierte VBV in einer Gesamtanalyse unabhängig von der Therapier Reihenfolge und in einer getrennten Auswertung der jeweils ersten Therapiephase

	EF	EA	PV [mPas]	Fibrinogen [mg/ml]	α_2 -Makroglobulin [mg/dl]	Plasminogen [% dNorm]
Ausgangswert	0,71 ± 0,09	14,1 ± 3,4	1,26 ± 0,07	482 ± 90	370 ± 99	78,1 ± 11,2
Placebowert	0,68 ± 0,16	11,5 ± 2,8	1,25 ± 0,06	494 ± 87	287 ± 109	77,6 ± 11,6
unter Pentoxifyllin	0,74 ± 0,09	13,8 ± 3,9	1,24 ± 0,06	487 ± 87	367 ± 87	79,3 ± 14,1
%-Diff. unter Pentoxifyllin	24,0% ± 63,7%	19,7% ± 47,0%	-1,9% ± 4,4%	-2,4% ± 16,7%	-2,4% ± 14,9%	0,5% ± 13,2%
unter ASS	0,69 ± 0,13	12,6 ± 2,8	1,24 ± 0,6	460 ± 84	359 ± 102	77,3 ± 12,1
%-Diff. unter ASS	-2,3% ± 24,4%	-1,9% ± 26,8%	-0,2% ± 4,5%	-0,7% ± 15,6%	-3,6% ± 7,5%	1,2% ± 8,2%
Ausgangswert Schema I	0,70 ± 0,09	14,9 ± 4,1	1,26 ± 0,07	502 ± 69	360 ± 100	78,6 ± 11,0
unter Pentoxifyllin	0,78 ± 0,05	13,6 ± 2,9	1,23 ± 0,05	468 ± 75	360 ± 104	75,6 ± 11,1
%-Diff. unter Pentoxifyllin	12,7% ± 14,5% *	-4,7% ± 19,8%	-2,5% ± 2,7% *	-6,8% ± 8,4% *	1,5% ± 18,4%	-3,3% ± 8,1%
Ausgangswert Schema II	0,71 ± 0,09	13,4 ± 3,0	1,25 ± 0,09	461 ± 107	379 ± 104	77,7 ± 12,2
unter ASS	0,65 ± 0,16	11,6 ± 2,6	1,26 ± 0,06	471 ± 81	359 ± 92	79,6 ± 11,8
%-Diff. unter ASS	-6,5% ± 31,8%	-11,6% ± 20,7%	0,8% ± 5,8%	3,9% ± 12,7%	-4,3% ± 10%	2,9% ± 9,8%

Tab.30: Darstellung der Ergebnisse der Erythrozytenaggregation, der Erythrozytenfiltration, der Plasminogenaktivität, des Fibrinogen-, α_2 -Makroglobulin- und Plasminogen-Gehaltes in einer Gesamtanalyse und in der getrennten Auswertung der jeweils ersten Phase der beiden Therapie-Schemata (*signifikant)

	ADP-induz.TA [μ M]	Kollagen-ind.TA [μ M]	β -TG [ng/ml]	TXB ₂ [ng/ml]	6-Keto-PGF _{1α} [ng/ml]	AT III [% dNorm]	PTT [sec]
Ausgangswert	1,11 $\pm$ 0,24	0,48 $\pm$ 0,07	106 $\pm$ 68	0,137 $\pm$ 0,134	0,068 $\pm$ 0,030	83,4 $\pm$ 16,1	23,2 $\pm$ 1,9
Placebowert	1,27 $\pm$ 0,28	0,71 $\pm$ 0,28	79 $\pm$ 51	0,091 $\pm$ 0,070	0,131 $\pm$ 0,064	72,7 $\pm$ 11,9	24,5 $\pm$ 2,0
unter Pentoxifyllin	1,71 $\pm$ 0,47	0,96 $\pm$ 0,46	72 $\pm$ 38	0,117 $\pm$ 0,126	0,102 $\pm$ 0,072	69,7 $\pm$ 12,0	24,2 $\pm$ 2,3
%-Diff. unter Pentoxifyllin	43,1% $\pm$ 47,4% *	77,8% $\pm$ 89,5% *	6,4% $\pm$ 86,9%	76,3% $\pm$ 153,8%	38,8% $\pm$ 139,5%	-4,3% $\pm$ 27,4%	1,3% $\pm$ 8,7%
unter ASS	2,36 $\pm$ 0,84	1,75 $\pm$ 0,55	77 $\pm$ 55	0,053 $\pm$ 0,044	0,059 $\pm$ 0,031	80,2 $\pm$ 14,8	24,8 $\pm$ 2,0
%-Diff. unter ASS	111,2% $\pm$ 73,3% *	227,8% $\pm$ 205,2% *	15,7% $\pm$ 142,2%	-41,5% $\pm$ 54,3% *	-26,9% $\pm$ 55,9%	2,7% $\pm$ 22,2%	5,2% $\pm$ 8,7% *
Ausgangswert Schema I	1,15 $\pm$ 0,20	0,5 $\pm$ 0,0	104 $\pm$ 61	0,152 $\pm$ 0,178	0,063 $\pm$ 0,032	79,2 $\pm$ 19,4	23,6 $\pm$ 1,9
unter Pentoxifyllin	1,79 $\pm$ 0,54	1,0 $\pm$ 0,5	71 $\pm$ 44	0,101 $\pm$ 0,047	0,070 $\pm$ 0,049	69,2 $\pm$ 14,7	25,2 $\pm$ 2,0
%-Diff. unter Pentoxifyllin	60,2% $\pm$ 60,4% *	100% $\pm$ 100% *	-19,0% $\pm$ 38,4%	36,2% $\pm$ 109,9%	67,6% $\pm$ 180,0%	-7,7% $\pm$ 29,1%	7,2% $\pm$ 5,5% *
Ausgangswert Schema II	1,07 $\pm$ 0,29	0,47 $\pm$ 0,10	108 $\pm$ 77	0,121 $\pm$ 0,078	0,073 $\pm$ 0,030	87,7 $\pm$ 11,5	22,8 $\pm$ 2,0
unter ASS	2,21 $\pm$ 0,92	1,72 $\pm$ 0,67	66 $\pm$ 34	0,042 $\pm$ 0,042	0,045 $\pm$ 0,018	85,8 $\pm$ 13,8	24,0 $\pm$ 2,4
%-Diff. unter ASS	108,9% $\pm$ 65,0% *	311,1% $\pm$ 257,1% *	-16,5% $\pm$ 58,8%	-54,9% $\pm$ 50,4% *	-19,1% $\pm$ 96,4%	-0,5% $\pm$ 21,4%	5,7 $\pm$ 10,6% *

Tab.31: Darstellung der Ergebnisse der Therapiestudie in einer Gesamtanalyse und in einer getrennten Auswertung der jeweils ersten Therapiephase für die ADP- und Kollagen-induzierte TA, β -TG, TXB₂, 6-Keto-PGF_{1 α} , AT III und PTT (* = signifikante Veränderung)

Danksagung

Mein herzlicher Dank an dieser Stelle gilt PD Dr. H.-U. Janka für seine Unterstützung während der ganzen Zeit der Entstehung dieser Arbeit. Ebenso möchte ich mich bei PD Dr. E. Ernst für die ständige Hilfe und stete Betreuung während meiner Tätigkeit im Labor bedanken. Beide zeigten stets Entgegenkommen und Hilfestellungen bei auftretenden Fragen oder Problemen. Prof. Dr. H. Mehnert danke ich für die Überlassung des Themas.

Daneben gilt mein Dank aber auch Herrn Dr. E. Walter für seine Geduld und Hilfe bei der Betreuung der ambulanten Patienten und Frl. U. Helwig für die medizinisch-technischen Arbeiten im Diabetischen Forschungslabor, sowie Frl. S. Katzensteiner und Herrn S.E. Wilhelm für die Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit. Nicht zuletzt aber auch herzlichen Dank der Fa. Hoechst für die Bereitstellung der Mittel für die Medikamenten-Studie.

Lebenslauf

Name	Marga Viktoria Dorfmler
Geburtsdatum	18. Juni 1958
Geburtsort	Augsburg
Eltern	Franz Dorfmler, kaufm. Angest. in Rente Maria Dorfmler, geb. Müller, Verw.-Ang.
Volksschule	1964-68 Fröbelschule Augsburg-Haunstetten
Gymnasium	1968-76 Gymnasium bei St. Anna, Augsburg 1976 Abitur
Berufsausbildung	1976-79 Krankenhaus des Dritten Ordens München-Nymphenburg 1979 Staatsexamen als Krankenschwester
Berufstätigkeit	1979-81 Klinikum Großhadern, München
Studium	1981-87 Ludwig-Maximilians-Universität München III. Staatsexamen am 6. Mai 1987 Approbation am 18. Mai 1987
Berufstätigkeit	seit 1.8.1987 als Assistenzärztin an der III. Chir. Klinik im Zentralklinikum Augsburg Chefarzt Prof. Dr. A.-E. Rüter

